

ALMA MATER STUDIORUM · UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

---

Scuola di Scienze  
Dipartimento di Fisica e Astronomia  
Corso di Laurea in Fisica

Studi preliminari sulla Chemical Master  
Equation in biofisica

Relatore:  
Prof. Gastone Castellani

Presentata da:  
Daniele Montepietra

Anno Accademico 2016/2017

## Sommario

La Systems Biology è una nuova branca della biologia che si occupa di studiare quantitativamente la struttura degli organismi viventi e mira a comprendere come le parti interagiscano per creare strutture di livello superiore, soprattutto per quanto riguarda la termodinamica delle macromolecole e i cicli metabolici e genetici, con l'obiettivo di prevedere l'andamento nel tempo delle varie sostanze all'interno della cellula, che possono essere geni espressi, proteine o nutrienti.

Esistono diverse formulazioni di questo genere di problemi, quasi tutte basate sulle cosiddette equazioni di campo medio che descrivono l'andamento nel tempo di sistemi di grandi dimensioni e ben mescolati, e sono adatti a spiegare l'andamento nel tempo di esperimenti in provetta. Per studiare la cellula è però necessario fare un passo avanti ed occuparsi di sistemi in cui l'approssimazione termodinamica non è più valida ed il sistema non può più essere descritto dalla sola media nel tempo dei suoi componenti. È necessario perciò l'introduzione di una componente casuale nelle equazioni, chiamata rumore, e lo studio dei sistemi stocastici ottenuti.

In questa trattazione verrà fatta una panoramica generale sui concetti fondamentali in uso nella Systems Biology, partendo dalla definizione di variabile random fino ai processi Markoviani. Successivamente verrà introdotta e caratterizzata la Master Equation ed il suo legame con la dinamica Laplaciana, per passare poi alla Chemical Master Equation, ai suoi metodi di risoluzione e alle sue tipologie. Prima di studiare nel concreto un vero e proprio sistema verranno richiamati alcuni concetti della termodinamica classica di equilibrio e introdotti nuovi strumenti per studiare la termodinamica di sistemi biologici. Sarà poi preso in esame un esempio di sistema biologico e verrà caratterizzato termodinamicamente, sottolineando l'importanza di alcuni risultati.

# Introduzione

Le equazioni deterministiche rappresentano l'andamento della media del sistema nel tempo, e sono infatti chiamate anche **approccio di campo medio** quando applicate ad un sistema stocastico. In molti casi però l'andamento della media non è sufficiente (o addirittura errato) per descrivere il comportamento del sistema in modo completo, per cui si rende necessario l'inserimento di un **rumore**, che genera le componenti di casualità del sistema. Questo rumore deve essere ovviamente inserito in modo corretto in quanto un inserimento errato può portare a non riconoscere alcune proprietà del sistema o, al contrario, vederne dove non ce ne sono.

La Chemical Master Equation (CME) garantisce che la stocasticità intrinseca al sistema venga rappresentata accuratamente. Questo fatto ha importanza in quanto le equazioni differenziali ordinarie si muovono nel campo reale e permettono alle variabili di assumere tutti i valori possibili (anche non interi), ma in alcuni sistemi, come quelli ecologici (dove si conteggia il numero di individui) o quelli biochimici (dove si conteggia il numero di molecole presenti), questa ipotesi non è corretta (però spesso viene considerata un'approssimazione accettabile). Il rumore inoltre, se introdotto nel modo appropriato, è in grado di rendere bistabile un sistema che altrimenti avrebbe un solo stato stabile. Questo comportamento è ritenuto essere uno dei principi fondamentali nel processo di memoria epigenetica cellulare: recenti osservazioni infatti mostrano che le cellule trasmettono alle loro discendenti non solo il loro corredo genetico, ma il loro intero stato chimico. Questo viene sfruttato come una sorta di memoria a breve termine dalle cellule, per decidere ad esempio quali geni tenere attivi e quali soppressi.

Di grande interesse per la Systems Biology è lo studio dell'espressione genica. In una cellula tipicamente ci sono al massimo due copie di un singolo gene, e questo può essere solo in tre stati: non attivo, trascritto o represso, e anche l'eventuale RNA trascritto è di solito presente in poche copie. In una situazione di questo tipo un approccio di campo medio tramite equazioni deterministiche è completamente fuorviante in quanto i livelli di rumore intrinseco a DNA ed RNA influenzano pesantemente la produzione proteica e le funzioni cellulari. È quindi indispensabile trattare correttamente la stocasticità all'interno della cellula. Adesso verranno introdotti alcuni concetti fondamentali per la seguente trattazione.

# 1 Variabili random

Un sistema è detto **stocastico** quando la sua evoluzione nel tempo non è deterministica, ovvero non è (almeno del tutto) prevedibile a priori. In questi sistemi perciò non si può prevedere con esattezza dove il sistema si troverà dopo un certo tempo, ma solo quale sarà la probabilità di trovarlo in un certo stato.

**Definizione 1.** Variabile random

Una variabile **random** o **stocastica** è un oggetto  $X$  definito da un insieme di possibili valori e da una **distribuzione di probabilità** su di esso.

La distribuzione di probabilità è data da una funzione non negativa  $P(x) \geq 0$  e normalizzata

$$\int P(x)dx = 1$$

In termini di  $P(x)$  è possibile calcolare le **medie** e i **momenti**

$$\langle f(X) \rangle = \int f(x)P(x) dx \quad (1)$$

$$\mu_m \equiv \langle X^m \rangle = \int f(x)^m P(x) dx \quad (2)$$

In termini di questi è inoltre possibile definire la **varianza**

$$\sigma^2 = \langle (X - \langle X \rangle)^2 \rangle = \mu_2 - \mu_1^2 \quad (3)$$

**Definizione 2.** Densità di probabilità congiunta

Se  $X$  è una variabile random con  $r$  componenti  $X_1, X_2, \dots, X_r$  allora la sua densità di probabilità  $P_r(X_1, X_2, \dots, X_r)$  è chiamata **densità di probabilità congiunta** delle  $r$  variabili  $X_1, X_2, \dots, X_r$ .

**Definizione 3.** Probabilità condizionale

Se si attribuiscono valori fissati  $X_{s+1}, \dots, X_r$  allora la distribuzione di probabilità congiunta delle variabili rimanenti  $P_{s|r-s}(X_1, \dots, X_s | X_{s+1}, \dots, X_r)$  è chiamata **probabilità condizionale** di  $X_1, \dots, X_s$ .

Si ha quindi la regola di Bayes

$$P_r(X_1, \dots, X_r) = P_{r-s}(X_{s+1}, \dots, X_r) P_{s|r-s}(X_1, \dots, X_s | X_{s+1}, \dots, X_r) \quad (4)$$

Una volta definita una variabile random  $X$  è possibile derivare da questa altre quantità  $Y$ , in particolare quelle dipendenti da una variabile addizionale  $t$  (che nel nostro caso rappresenta il tempo).

$$Y_X(t) = f(X, t) \quad (5)$$

Tale quantità  $Y(t)$  è chiamata **processo stocastico**. Si definisce inoltre

**Definizione 4.** Processo stocastico stazionario

Un processo stocastico è **stazionario** quando i momenti non sono affetti da una traslazione temporale:

$$\langle Y(t_1 + \tau)Y(t_2 + \tau)\dots Y(t_n + \tau) \rangle = \langle Y(t_1)Y(t_2)\dots Y(t_n) \rangle \quad (6)$$

In particolare  $\langle Y(t) \rangle$  è indipendente dal tempo.

## 2 Processi markoviani

Se si abbandona l'ipotesi di salti a tempi discreti si ottengono i cosiddetti **processi di Markov**, che si svolgono nel tempo continuo.

**Definizione 5.** Processo Markoviano

Un **processo markoviano** è un processo stocastico con la proprietà che per ogni insieme di  $n$  tempi successivi  $t_1 < t_2 < \dots < t_n$  uno ha

$$P_{1|n-1}(y_n, t_n | y_1, t_1; \dots; y_{n-1}, t_{n-1}) = P_{1|1}(y_n, t_n | y_{n-1}, t_{n-1}) \quad (7)$$

Cioè la densità di probabilità condizionale al tempo  $t_n$ , dato il valore  $y_{n-1}$  al tempo  $t_{n-1}$  è determinata unicamente e non è affetta dalla conoscenza dei valori a tempi precedenti. Un sistema perciò gode della proprietà di Markov se la sua evoluzione a partire da un determinato stato dipende unicamente da quello stato. Questo significa che il sistema non ha memoria, e ciò che gli succederà dipenderà solo da dove si troverà in quel determinato momento, e non da quello che gli è successo in passato. Questo vale sempre per le equazioni deterministiche, ma in generale viene utilizzato solo per i sistemi stocastici.

Un processo markoviano è inoltre completamente definito dalle due funzioni  $P_1(y_1, t_1)$  e  $P_{1|1}(y_2, t_2 | y_1, t_1)$  (le **probabilità di transizione**), in quanto l'intera gerarchia può essere costruita partendo da loro. Infatti si ha, prendendo  $t_1 < t_2 < t_3$

$$\begin{aligned} P_3(X_1, t_1; X_2, t_2; X_3, t_3) &= P_2(X_1, t_1; X_2, t_2) P_{1|2}(X_3, t_3 | X_1, t_1; X_2, t_2) = \\ &= P_1(X_1, t_1) P_{1|1}(X_2, t_2 | X_1, t_1) P_{1|1}(X_3, t_3 | X_2, t_2) \end{aligned} \quad (8)$$

In questo caso le transizioni non sono più discrete ma caratterizzate da tassi di reazione  $\pi_{ij}$  che rappresentano la probabilità istantanea di passaggio da uno stato all'altro, per cui la probabilità di passare dallo stato  $i$  allo stato  $j$  nel tempo  $\delta t$ , con  $\delta t \rightarrow 0$ , è pari a  $\pi_{ij}\delta t$ . In questa approssimazione  $\pi_{ij}$  può essere considerato indipendente dal tempo.

**Definizione 6.** Catena

Si definisce **catena** una successione di stati, in particolare quelli in cui il sistema si trova ad ogni valore di  $t$ .

**Definizione 7.** Catena di Markov

Una **catena di Markov** è una realizzazione di un sistema stocastico in base a leggi probabilistiche che legano la probabilità di finire in un certo stato in base a quello da cui si sta partendo.

Le **catene di Markov a tempo discreto** sono una successione di stati senza informazione temporale, ossia in cui la distanza temporale è considerata essere fissa.

Se si calcola su un lungo periodo di osservazione il tempo medio di permanenza in ciascuno stato si troverà una distribuzione delle probabilità di occupazione, che sotto condizioni abbastanza generali è univocamente legata alle regole della catena considerata ed è costante nel tempo. Questa distribuzione è chiamata **distribuzione stazionaria** della catena, e permette di rispondere ad una domanda molto importante in ambito biologico: se si osserva il sistema, in quali stati può essere trovato, e con quale probabilità?

Per rispondere a questa domanda si può associare ad ogni tempo  $t_k$  un vettore  $\mathbf{X}_k$  al sistema, in cui ogni elemento rappresenta uno dei possibili stati ed il suo valore la probabilità di occupazione dello stato in quel preciso momento. Tutti gli elementi di questo vettore sono maggiori di zero e la loro somma deve essere 1. Si può quindi associare una matrice  $\mathbb{W}$  a questo sistema, detta **matrice di transizione**, che associa ad ogni stato le probabilità di transizione verso tutti gli altri stati. Tutti gli elementi di questa matrice sono maggiori o uguali a zero e la somma degli elementi su ciascuna riga deve essere 1 per la conservazione della probabilità. Per conoscere la distribuzione di probabilità al tempo  $t_{k+1}$  è sufficiente calcolare

$$\mathbf{X}_{k+1} = \mathbb{W} \cdot \mathbf{X}_k \quad (9)$$

Gli stati successivi possono essere calcolati ripetendo questa operazione

$$\mathbf{X}_{k+n} = \mathbb{W}^n \cdot \mathbf{X}_k \quad (10)$$

Come accennato precedentemente (e come verrà ripreso successivamente) la teoria delle catene di Markov ci garantisce che il processo convergerà ad un vettore  $\mathbf{X}_s$ , chiamato **stato stazionario** del sistema. Questo vettore non è altro che l'autovettore dell'autovalore 1 della matrice  $\mathbb{W}$ , che esiste sempre per come è stata definita la matrice. Sempre per definizione, tutti gli altri autovalori (complessi o reali) hanno norma inferiore ad uno. Gli autovettori corrispondenti sono detti **stati transitori**. Nelle catene discrete sono possibili **stati oscillanti** (autovalori  $1, i, -i$ ), che però non sono possibili nella versione delle catene a tempo continuo.

È importante ricordare che la convergenza assicurata di una catena di Markov ad una distribuzione stazionaria non implica necessariamente che il sistema raggiunga un equilibrio stabile, ossia che si stabilizzi su di un solo stato di arrivo, ma in generale il sistema continuerà a passare da uno stato all'altro indefinitamente.

Anche il termine equilibrio qui ha un significato preciso, ed è legato al cosiddetto **bilancio** (o **equilibrio**) **dettagliato** (DB)

$$P_j \cdot \mathbb{W}_{ji} = P_i \cdot \mathbb{W}_{ij} \quad \forall i, j \quad (11)$$

È anche importante sottolineare che la distribuzione stazionaria non dà informazione sullo stato dinamico del sistema.

### 3 Equazione di Chapman-Kolmogorov

L'**equazione di Chapman-Kolmogorov** (C-K) è un'identità che lega le distribuzioni di probabilità congiunte di diversi insiemi di coordinate di un processo stocastico.

Prendendo la relazione (8) per  $t_1 < t_2 < t_3$ , integrando su  $X_2$  e dividendo entrambi i lati per  $P_1$  otteniamo

$$P_{1|1}(X_3, t_3 | X_1, t_1) = \int P_{1|1}(X_3, t_3 | X_2, t_2) P_{1|1}(X_2, t_2 | X_1, t_1) dX_2 \quad (12)$$

Questa equazione afferma che un processo che inizia a  $t_1$  con valore  $X_1$  raggiunge  $X_3$  a  $t_3$  attraverso uno qualsiasi dei possibili valori  $X_2$  al tempo intermedio  $t_2$ .

Come già detto in precedenza, le funzioni non negative  $P_1$  e  $P_{1|1}$  determinano completamente un processo markoviano, ma non possono essere scelte arbitrariamente, in quanto devono obbedire a due identità:

- l'equazione di Chapman-Kolmogorov (12)
- la relazione necessaria

$$P_1(X_2, t_2) = \int P_{1|1}(X_2, t_2 | X_1, t_1) P_1(X_1, t_1) dX_1 \quad (13)$$

Si è definito un processo  $X_n$  **stazionario** (vedi Definizione 4) se questo non è affetto da una traslazione temporale, i.e.  $X_n$  e  $X_{n+1}$  hanno la stessa distribuzione di probabilità. In questo caso è usata una notazione particolare

$$P_{1|1}(X_2, t_2; X_1, t_1) = T_\tau(X_2 | X_1) \quad (14)$$

con  $\tau = t_2 - t_1$ . L'equazione di C-K, per  $\tau, \tau' > 0$  diventa

$$T_{\tau+\tau'}(X_3 | X_1) = \int T_{\tau'}(X_3 | X_2) T_\tau(X_2 | X_1) dX_2 \quad (15)$$

I processi markoviani non stazionari la cui probabilità di transizione dipende solamente da differenze temporali sono chiamati processi **omogenei**.

# Master equation

Un'equazione stocastica è in generale di tipo:

- non lineare
- in campo discreto
- con forti discontinuità

il vantaggio della master equation (ME) è di rendere queste equazioni continue, lineari e deterministiche andando a studiare l'evoluzione delle probabilità più che dei singoli stati. Il prezzo da pagare con questo approccio è il passaggio da due o tre ad un numero indeterminato di equazioni, ma generalmente molto grande (anche infinito).

L'equazione di C-K per un processo stazionario è una relazione funzionale, e la master equation è una versione più conveniente della stessa: è un'equazione differenziale ottenuta nel limite della differenza temporale  $\tau' \rightarrow 0$ . Si ottiene perciò

$$\frac{\partial P}{\partial t} = \int [W(X|X')P(X'|t) - W(X'|X)P(X|t)] dX' \quad (16)$$

L'interpretazione è la seguente: si prenda un tempo  $t_1$  e un valore  $X_1$  e si consideri la soluzione dell'equazione determinata per  $t \geq t_1$  dalla condizione iniziale  $P(X, t_1) = \delta(t - t_1)$ . Questa soluzione è la probabilità di transizione  $T_{\tau-\tau'}(X|X_1)$  del processo markoviano per una qualsiasi scelta di  $t_1$  e  $X_1$ .

Se il range di  $X$  consiste in un insieme discreto di stati con indici  $n$ , l'equazione si riduce a

$$\frac{\partial p_n(t)}{\partial t} = \sum_{n'} [W_{n,n'} p_{n'}(t) - W_{n',n} p_n(t)] \quad (17)$$

Questa forma della master equation rende il suo significato fisico ancora più chiaro: la ME è un'equazione di gain-loss per la probabilità di ogni stato  $n$ . Il primo termine rappresenta il guadagno dovuto alla transizione dallo stato  $n'$  a  $n$  mentre il secondo rappresenta la perdita dovuta alla transizione da  $n$  a  $n'$ . Uno **stato stabile** è una condizione per cui la distribuzione di probabilità non cambia nel tempo, i.e.  $\frac{\partial p_n(t)}{\partial t} = 0$ . Di conseguenza

$$\sum_{n'} [W_{n,n'} p_{n'}^s - W_{n',n} p_n^s] = 0 \quad (18)$$

Per cui la proprietà di stato stabile assume la forma

$$\sum_{n'} W_{n,n'} p_{n'}^s = \sum_{n'} W_{n',n} p_n^s \quad (19)$$

Questa relazione esprime il fatto che nello stato stabile, la somma di tutte le transizioni per unità di tempo verso qualunque stato  $n$  deve essere bilanciata dalla somma di tutte le transizioni da  $n$  in altri stati  $n'$ . Esiste un caso particolare per sistemi fisici chiusi, isolati e finiti, che è conosciuto come bilancio dettagliato (DB) (come già accennato in (11)). Questa proprietà è associata all'equilibrio termodinamico, per cui è possibile sostituire  $p_n^s$  con  $p_n^e$ . La condizione di equilibrio dettagliato è

$$W_{n,n'} p_{n'}^e = W_{n',n} p_n^e \quad (20)$$

Ciò significa che le transizioni per ogni coppia  $n, n'$  devono bilanciarsi separatamente.

Si definisce la **matrice di transizione**  $\mathbb{W}$  come

$$\mathbb{W} = \begin{cases} \mathbb{W}_{n,n'} = W_{n,n'} & \text{per } n \neq n' \\ \mathbb{W}_{n,n} = -\sum_{n' \neq n} W_{n,n'} & \text{per } n = n' \end{cases} \quad (21)$$

Usando questa definizione è possibile scrivere la ME come un sistema lineare dinamico

$$\frac{d\mathbf{p}(t)}{dt} = \mathbb{W} \cdot \mathbf{p}(t) \quad (22)$$

dove  $\mathbf{p}$  è un vettore colonna con componenti  $p_n$ .

$$W_{n,n'} \geq 0 \quad \text{per } n \neq n' \quad (23)$$

$$\sum_n W_{n,n'} = 0 \quad \forall n \quad (24)$$

Quest'ultima proprietà implica che  $\mathbb{W}$  ha determinante nullo, e di conseguenza ha un autovalore uguale a 0 il cui autovettore è detto **kernel** della matrice, corrispondente allo stato stazionario del sistema. Tutti gli altri autovalori hanno parte reale minore di 0, corrispondente a **componenti dispersive**.

Il più piccolo autovalore in modulo dopo lo zero è detto **stato metastabile** e rappresenta quanto rapidamente il sistema converge allo stato stazionario dopo una perturbazione. Questo autovalore indica dopo quanto tempo da un'osservazione dello stato del sistema si perda totalmente ogni informazione aggiuntiva oltre a quelle date dalla distribuzione stazionaria.

Se la matrice  $\mathbb{W}$  è separabile in una matrice a blocchi del tipo

$$\begin{pmatrix} A & 0 \\ 0 & B \end{pmatrix} \quad (25)$$

dove  $A$  e  $B$  sono due blocchi quadrati, il sistema è detto **divisibile** ed è composto da due sottosistemi completamente indipendenti. Questi due sottosistemi avranno quindi una propria evoluzione governata da una scala di tempo caratteristica ed una propria distribuzione stazionaria.

Per matrici del tipo

$$\begin{pmatrix} A & AB \\ 0 & B \end{pmatrix} \quad (26)$$

Con il blocco  $AB$  di forma e struttura qualsiasi, indica un flusso netto di probabilità dal sottosistema  $A$  al sottosistema  $B$ , che alla fine rimarrà l'unico sistema presente.

L'esistenza di una distribuzione stazionaria è subordinata alla condizione di ergodicità del sistema, cioè la matrice  $\mathbb{W}$  deve essere costante nel tempo. Questa condizione garantisce che il sistema sia ergodico nel senso termodinamico del termine, ovvero che la distribuzione di probabilità di occupazione degli stati che si può ottenere seguendo un singolo sistema a lungo nel tempo è identica alla distribuzione di probabilità generata dall'osservazione di un gran numero di sistemi identici in un certo istante di tempo  $t^*$ .

## 4 Dinamica Laplaciana e Master Equation

La **separazione a scala temporale** è un metodo sistematico utilizzato per la riduzione analitica della complessità di un sistema. In questa procedura si suppone che un sottosistema sia operante a velocità sufficientemente alta relativamente al resto del sistema, il quale si può immaginare abbia raggiunto uno stato stazionario. Le variabili veloci nel sottosistema possono quindi essere eliminate in favore di quelle lente.

I grafi che verranno utilizzati adesso saranno supposti *direzionati, con collegamenti indicizzati e non chiusi su se stessi*. Nelle applicazioni, i vertici di un grafo  $G$  rappresenteranno le variabili veloci nel sottosistema mentre i collegamenti (le frecce tra i vari vertici) le interazioni biochimiche tra queste variabili. Questo tipo di grafo dà luogo ad un sistema dinamico trattando ogni collegamento come una reazione chimica che obbedisce alla cinetica di azione di massa, col corrispondente indice come costante di reazione. Siccome ogni collegamento ha solamente un vertice sorgente, la corrispondente reazione è del primo ordine e la dinamica è lineare, dando luogo all'equazione

$$\frac{dx}{dt} = \mathcal{L}(G) \cdot x \quad (27)$$

Dove  $\mathcal{L}(G)$  è la **matrice laplaciana** di  $G$ , e successivamente si vedrà la sua corrispondenza con la matrice di transizione  $\mathbb{W}$ . La sua struttura è infatti

$$\mathcal{L}(G) = \begin{cases} e_{ij} & \text{per } i \neq j \\ -\sum_{v \neq j} e_{vj} & \text{per } i = j \end{cases} \quad (28)$$

Dove se in  $G$  è presente un collegamento dal vertice  $j$  a  $i$ ,  $j \rightarrow i$ , l'indice su tale collegamento è  $e_{ij}$  (che è un numero positivo con dimensioni  $[T]^{-1}$ ). Se tale collegamento non è presente allora  $e_{ij} = 0$ .

Dalla definizione di  $\mathcal{L}(G)$  si ha che se  $i = j$  il termine corrispondente è la somma (a meno di un segno) degli indici dei collegamenti che escono dal vertice considerato.

Il trucco che permette di utilizzare questa struttura lineare anche per sistemi biochimici non lineari risiede negli indici  $e_{ij}$ , che possono essere espressioni algebriche contenenti le concentrazioni delle variabili lente e le costanti di transizione delle reazioni biochimiche in esame. Quello che accade in pratica perciò è l'adozione di una struttura lineare scambiando la dinamica non lineare e con costanti di transizione semplici per una dinamica lineare ma con indici più complicati. Questo permette di poter calcolare gli stati stazionari e di eliminare le variabili veloci.

**Definizione 8.** Grafo fortemente connesso

Un grafo  $G$  è detto **fortemente connesso** quando, dati due vertici distinti  $i, j$ , c'è un cammino in  $G$  di collegamenti diretti da  $i$  a  $j$ .

$$i = i_1 \rightarrow i_2 \rightarrow \dots \rightarrow i_k = j$$

Siccome  $i$  e  $j$  sono arbitrari, ci deve essere anche un tale cammino da  $j$  a  $i$ . Per un grafo essere fortemente connesso significa quindi che da ogni suo vertice è possibile arrivare a qualsiasi altro suo vertice seguendo il verso indicato dalle frecce che rappresentano i collegamenti. Questa caratteristica dei grafi gli fa assumere molte proprietà interessanti. Esempi di sistemi con grafi non fortemente connessi sono quelli che descrivono la regolazione genica lontana dall'equilibrio termodinamico.

A favore di questo modello è il fatto che la dinamica laplaciana (27) sia lineare e ben conosciuta, con metodi standard per calcolare le soluzioni dell'equazione per lo stato stazionario  $\mathcal{L}(G) \cdot x = 0$ . Uno dei problemi che invece potrebbero creare questi metodi è l'utilizzo dei determinanti, che hanno termini con segni alternati, e potrebbe non essere immediatamente chiaro che le soluzioni risultanti abbiano la proprietà di positività. Questo problema sarà risolto successivamente. Verranno ora richiamate alcune proprietà dei sistemi lineari.

Sia  $A$  una matrice  $n \times n$  con  $A_{ij} \in \mathbb{R}$ . L'equazione  $\frac{dx}{dt} = A \cdot x$  ha come soluzione

$$x(t) = x_0 e^{At} \tag{29}$$

L'esponenziale può essere calcolato dalla forma normale di Jordan di  $A$ , dalla quale segue che la soluzione  $x_i(t)$  è una combinazione lineare in  $\mathbb{C}$  di termini del tipo

$$t^\mu e^{\lambda t} \tag{30}$$

Dove  $\mu$  è un intero non negativo e  $\lambda \in \mathbb{C}$  è un autovalore di  $A$ . Una potenza positiva di  $t$  indica che l'autovalore  $\lambda$  è ripetuto. Siccome  $A$  è una matrice reale, il complesso

coniugato di  $\lambda$  è anch'esso un autovalore di  $A$ . Se si pone  $\Re(\lambda) = a$ ,  $\Im(\lambda) = b$  allora

$$e^{\lambda t} = e^{at}(\cos(bt) + i \sin(bt)) \Rightarrow t^\mu e^{at}(\cos(bt) + i \sin(bt)) \quad (31)$$

La domanda è: cosa accade a  $x(t)$  nel limite per  $t \rightarrow \infty$  ?

- Se per tutti gli autovalori di  $A$  si ha  $\Re(\lambda) < 0$ , l'esponenziale negativo prevarrà su  $t^\mu$  e le funzioni seno e coseno, per cui  $x = 0$  sarà l'unico stato stazionario e  $x(t) \rightarrow 0$  per  $t \rightarrow \infty$ .
- Se nessuno degli autovalori è zero e almeno uno di loro soddisfa  $\Re(\lambda) \geq 0$  allora il sistema oscillerà o tenderà a zero all'infinito.

Quello che accade in realtà è dato dalla seguente

**Proposizione 4.1.** *Autovalori di  $G$*

*Per un qualunque grafo  $G$ , se  $\lambda$  è un autovalore di  $\mathcal{L}(G)$  allora  $\lambda = 0$  o  $\Re(\lambda) < 0$ .*

Se l'autovalore 0 è ripetuto allora l'equazione (30) può portare termini della forma  $t^\mu$ , che vanno all'infinito con  $t$ .

Legati agli autovalori ci sono anche i concetti di molteplicità algebrica e geometrica di un autovalore,  $\text{alg}(\lambda)$  e  $\text{geo}(\lambda)$ , per i quali vale  $\text{alg}(\lambda) \geq \text{geo}(\lambda)$ . La disuguaglianza tra questi due valori porta a comportamenti instabili di  $x(t)$ :

**Proposizione 4.2.** *Si supponga che la matrice reale  $A$  abbia la stessa distribuzione di autovalori di una matrice laplaciana, come indicato nella Proposizione 4.1. Allora*

- *Se  $\text{alg}_A(0) = \text{geo}_A(0)$  allora la soluzione di  $\frac{dx}{dt} = A \cdot x$  tende ad uno stato stazionario per  $t \rightarrow \infty$  indipendentemente dalla condizione iniziale.*
- *Se  $\text{alg}_A(0) > \text{geo}_A(0)$  allora esiste qualche condizione iniziale per cui  $x(t) \rightarrow \infty$ .*

Per applicare questa proposizione alle matrici laplaciane è necessario anzitutto caratterizzare la struttura del grafo corrispondente.

## 4.1 Grafi fortemente connessi

**Definizione 9.** Se  $G$  è un grafo, si dice che il vertice  $i$  **raggiunge ultimamente** il vertice  $j$  ( $i \Rightarrow j$ ) se  $i = j$  o esiste un cammino diretto da  $i$  a  $j$ .

$$i = i_1 \rightarrow i_2 \rightarrow \dots \rightarrow i_k = j$$

**Definizione 10.** Il vertice  $i$  è detto **fortemente connesso** col vertice  $j$  ( $i \approx j$ ) se  $i \Rightarrow j$  e  $j \Rightarrow i$ .

La connettività forte è una relazione di equivalenza sull'insieme dei vertici, le cui classi di equivalenza sono le **componenti fortemente connesse** (SCC).

**Definizione 11.** Un grafo  $G$  è detto fortemente connesso se tutti i suoi vertici si trovano in una singola SCC.

Da queste definizioni è possibile ricavare un importante risultato

**Proposizione 4.3.** *Se  $G$  è un grafo fortemente connesso allora  $\dim \text{Ker } \mathcal{L}(G) = 1$ .*

Siccome  $\text{Ker } \mathcal{L}(G)$  è l'autospazio dell'autovalore zero allora quando  $G$  è fortemente connesso  $\text{geo}_{\mathcal{L}(G)}(0) = 1$ . L'interpretazione fisica di questa proposizione è che la dinamica laplaciana può partire con concentrazioni arbitrarie ad ogni vertice (visto che inizialmente ci sono tanti gradi di libertà quanti sono i vertici nel grafo), ciò nonostante se il sistema raggiunge lo stato stazionario tutti questi gradi di libertà sono persi, eccetto uno. Questo è vero indipendentemente dalla complessità del grafo, a patto solamente che questo sia fortemente connesso. È il collasso di questi gradi di libertà che permette l'eliminazione delle variabili veloci.

Per ottenere formule utilizzabili nelle applicazioni è necessario però identificare una base in  $\text{Ker } \mathcal{L}(G)$ . Gli elementi della base  $\rho \in \text{Ker } \mathcal{L}(G)$  possono essere calcolati algebricamente dalla struttura del grafo col teorema Matrix-Tree. Prima di enunciarlo è utile introdurre qualche altra notazione.

**Definizione 12.** **Spanning Tree**

Per ogni grafo  $G$ , un sottografo  $T$  è detto **spanning tree** di  $G$  se  $T$  raggiunge ogni vertice di  $G$  ed è connesso e aciclico come un grafo non direzionato.

$T$  è **radicato** in  $i \in G$  se  $i$  è l'unico vertice di  $T$  che non ha collegamenti uscenti,  $i \nrightarrow j$ .

Questo implica che ogni vertice non radicato ha esattamente un collegamento uscente.

**Lemma 4.4.** *Un grafo  $G$  è fortemente connesso se e solo se ha uno spanning tree radicato ad ogni vertice.*

Sia  $\Theta_i(G)$  l'insieme degli spanning trees di  $G$  radicati in  $i$ . Data una matrice  $A$   $n \times n$ ,  $A_{(ij)}$  è la **ridotta** data dal determinante della matrice  $(n-1) \times (n-1)$  ottenuta da  $A$  rimuovendo la  $i$ -esima riga e la  $j$ -esima colonna.

**Teorema 4.5.** *Teorema Matrix-Tree (Tutte, 1948)*

*Se  $G$  è un qualunque grafo con  $n$  vertici allora le ridotte della sua Laplaciana sono date da*

$$\mathcal{L}(G)_{(ij)} = (-1)^{n+i+j-1} \sum_{T \in \Theta_j(G)} \left( \prod_{k \xrightarrow{a} l \in T} a \right) \quad (32)$$

In altre parole, a meno di un segno, l'  $ij$ -esimo ridotto del Laplaciano è la somma su tutti gli spanning tree radicati in  $j$  dei prodotti degli indici dei collegamenti di ogni tree.

**Definizione 13.** Matrice aggiunta

Se  $A$  è una matrice, la sua **matrice aggiunta**  $\text{adj}(A)$  è la trasposta della matrice dei cofattori

$$\text{adj}(A)_{ij} = (-1)^{i+j} A_{ji} \quad (33)$$

La matrice aggiunta appare in 2 formule note:

- L'espansione di Laplace per il determinante

$$\text{adj}(A) \cdot A = A \cdot \text{adj}(A) = \det(A) \cdot I \quad (34)$$

Se  $\mathcal{L}(G)$  è la matrice laplaciana di un grafo  $G$ , allora per la Proposizione 4.3  $\det \mathcal{L}(G) = 0$ , quindi per la (33) le colonne di  $\text{adj}(\mathcal{L}(G))$  sono elementi del  $\text{Ker} \mathcal{L}(G)$ .

Siano  $\rho^G \in \mathbb{R}_{>0}^N$  i vettori colonna dati dagli spanning tree radicati ad ogni vertice attraverso la formula

$$\rho_i^G = \sum_{T \in \Theta_j(G)} \left( \prod_{k \xrightarrow{a} l \in T} a \right) \quad (35)$$

Usando le equazioni in (33) e (32), la matrice aggiunta può essere espressa in termini di  $\rho^G$  come

$$\text{adj}(\mathcal{L}(G))_{ij} = (-1)^{i+j} (-1)^{n+j+i-1} \rho_i^G = (-1)^{n-1} \rho_i^G$$

Ne consegue che ognuna delle colonne di  $\text{adj}(\mathcal{L}(G))$  è, a meno del segno, uguale a  $\rho^G$ . Se inoltre  $G$  è fortemente connesso segue dal Lemma 4.4 che  $\rho^G > 0$  per tutti gli  $i$ . In particolare  $\rho^G \neq 0$ . Siccome  $\dim \text{Ker} \mathcal{L}(G) = 1$  per la Proposizione 4.3, questo fornisce una base per  $\text{Ker} \mathcal{L}(G)$ .

**Corollario 4.6.** *Se  $G$  è un grafo fortemente connesso allora  $\text{Ker} \mathcal{L}(G) = \langle \rho^G \rangle$  e  $\rho_i^G > 0 \forall i$ .*

Questo corollario fornisce la positività menzionata precedentemente. Quindi se il grafo è fortemente connesso le costanti di transizione e le concentrazioni sono positive, per cui  $\rho^G$  ha solo valori positivi.

- La formula per la derivata del determinante

$$\frac{d}{dt} \det A(t) = \text{Tr} \left( \text{adj}(A(t)) \cdot \frac{dA(t)}{dt} \right) \quad (36)$$

Dove  $A(t)$  è una qualsiasi matrice differenziabile funzione di una sola variabile. Da questo segue che

**Proposizione 4.7.** *Se  $G$  è un grafo fortemente connesso allora  $\text{alg}_{\mathcal{L}(G)}(0) = 1$ .*

È stato quindi stabilito che per un grafo  $G$  fortemente connesso  $\text{alg}_{\mathcal{L}(G)}(0) = \text{geo}_{\mathcal{L}(G)}(0) = 1$ , per cui le condizioni della Proposizione 4.2 sono verificate, quindi la soluzione del sistema lineare  $\frac{dx}{dt} = A \cdot x$  tende ad uno stato stazionario per  $t \rightarrow \infty$  indipendentemente dalla condizione iniziale.

## 4.2 Grafi generici

Per estendere questa teoria a grafi più generici bisogna prima compiere una decomposizione di  $G$  nei suoi SCC. Denotiamo con  $[i]$  la SCC contenente  $i$ .

**Definizione 14.** Relazione di precedenza

Dati due SCC  $[i]$  e  $[j]$ , si dice che  $[i]$  **precede**  $[j]$  ( $[i] \preceq [j]$ ), se  $i' \Rightarrow j'$  per qualche  $i' \in [i]$ ,  $j' \in [j]$ .

La relazione di precedenza è una relazione di ordine parziale sui SCC. Ne consegue che si possono distinguere gli SCC **terminali**, ossia quegli  $[i]$  t.c. se  $[i] \preceq [j] \Rightarrow [i] = [j]$  da quelli non terminali. Si rinominino ora i vertici di  $G$  come segue.

1. Si scelga un ordine dei SCC,  $C_1, \dots, C_p$  t.c. se  $C_i \preceq C_j$  allora  $i \leq j$ . Di conseguenza ci sono
  - $q$  terminali:  $C_{p-q+1}, C_{p-q+2}, \dots, C_p$
  - $p - q$  non terminali:  $C_1, C_2, \dots, C_{p-q}$
2. Si denoti con  $c_i = \#C_i$ , in modo che  $c_1 + \dots + c_p = N$ .
3. Si denoti con  $d_i$  le somme parziali di questa sequenza:  $d_i = \sum_{1 \leq j \leq i} c_j$  per  $1 \leq i \leq p$ , con  $d_0 = 0$ .
4. Si ordinino i vertici in  $C_i$  usando solamente gli indici  $d_{i-1}, \dots, d_{i-1} + c_i = d_i$ .

Per costruzione la matrice laplaciana di  $G$  in questa nuova base è nella forma a blocchi triangolare inferiore.

$$\mathcal{L}(G) = \begin{pmatrix} L_1 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ * & * & L_{p-q} & 0 & \dots & 0 \\ * & \dots & * & L_{p-q+1} & 0 & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ * & \dots & * & 0 & 0 & L_p \end{pmatrix} \quad (37)$$

Dove gli asterischi \* indicano blocchi che possono essere non nulli. I blocchi  $L_1, \dots, L_p$  lungo la diagonale principale sono le sottomatrici definite restringendo  $\mathcal{L}(G)$  ai vertici dei corrispondenti SCC ( $C_1, \dots, C_p$ ) dove  $L_{p-q+1}, \dots, L_p$  sono quelli terminali. Ogni  $L_i$  è una sottomatrice quadrata  $c_i \times c_i$ . La forma triangolare a blocchi inferiore deriva dal fatto che se è presente un collegamento da un vertice in  $C_i$  a uno in un blocco  $C_j$  differente allora per costruzione  $i < j$ . Siccome non possono esserci collegamenti uscenti da SCC terminali, la matrice è diagonale a blocchi.

Si consideri ora la matrice  $L_i$  come a sè stante e  $C_i$  come un grafo con vertici  $c_1, \dots, c_i$ , escludendo quelli che entrano od escono dal SCC, e si indichi il grafo risultante con  $C_i^*$ . È possibile associare ad ogni  $L_i$  un  $\rho^{C_i^*} \in \mathbb{R}_{>0}^{c_i}$  che è un elemento della base per  $\text{Ker} L_i$  ed estendere questo risultato ad un vettore  $\rho^{-C_i^*} \in \mathbb{R}_{>0}^N$  ponendo tutte le componenti con indice fuori da  $C_i$  uguali a zero

$$(\rho^{-C_i^*})_j = \begin{cases} (\rho^{C_i^*})_{j-d_{i-1}} & \text{se } d_{i-1} + 1 \leq j \leq d_i \\ 0 & \text{altrimenti} \end{cases}$$

Allora

**Lemma 4.8.** *Se un grafo  $G$  è nella forma richiesta per (37) allora ogni blocco diagonale per un SCC non terminale è invertibile.*

**Proposizione 4.9.** *Per ogni grafo  $G$*

$$\text{Ker} \mathcal{L}(G) = \langle \rho^{-C_{p-q+1}^*}, \dots, \rho^{-C_p^*} \rangle$$

*inoltre  $\dim \text{Ker} \mathcal{L}(G) = q$  e  $\text{geo}_{\mathcal{L}(G)}(0) = \text{alg}_{\mathcal{L}(G)}(0) = q$ .*

Essendo soddisfatte le condizioni della proposizione 4.2 si ottiene il seguente teorema

**Teorema 4.10.** *Se  $G$  è un grafo allora la soluzione della dinamica laplaciana  $\frac{dx}{dt} = \mathcal{L}(G) \cdot x$  converge ad uno stato stazionario per  $t \rightarrow \infty$  per una qualunque condizione iniziale  $x_0 \in \mathbb{R}^N$ .*

### 4.3 Legame tra dinamica Laplaciana e Master Equation

Finora la dinamica laplaciana è stata utilizzata per descrivere i cambiamenti di concentrazione delle specie chimiche coinvolte. Dato un grafo  $G$  adesso si passa dal considerare concentrazioni macroscopiche di molecole che si trasformano dal vertice  $i$  al vertice  $j$  a singole molecole che cambiano dallo stato  $i$  allo stato  $j$ . Sia  $u_i(t)$  la probabilità di trovare una molecola nel vertice  $i$  al tempo  $t$ , considerando un processo markoviano nel tempo continuo e a stati finiti. La domanda a cui si vuole rispondere è: come si calcola  $u_i(t)$ ?

Si supponga che  $X(t)$  sia un processo markoviano come quello descritto sopra sugli stati  $1, \dots, N$ , omogeneo nel tempo, cioè  $P_{t+\Delta t|t}(X(t+\Delta t) = i | X(t) = j) = P(X(t))$ , ossia la probabilità non dipende da  $t$ . Si assuma inoltre che  $X$  si comporti sufficientemente bene per determinare il tasso di transizione infinitesimo da  $j$  a  $i \neq j$

$$e_{ij} = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{P_{t+\Delta t|t}(X(t+\Delta t) = i | X(t) = j)}{\Delta t} \quad (38)$$

Questo tasso ha dimensioni di  $[T]^{-1}$ . È possibile riscrivere la (38) come

$$P_{t+\Delta t|t}(X(t+\Delta t) = i | X(t) = j) = e_{ij} \Delta t + o(\Delta t) \quad (39)$$

Il termine diagonale  $e_{jj}$  è calcolato diversamente sfruttando il fatto che il processo debba essere in qualche stato mentre la probabilità totale deve essere normalizzata a 1:

$$P_{t+\Delta t|t}(X(t+\Delta t) = j | X(t) = j) = 1 - \left( \sum_{v \neq j} e_{vj} \right) \Delta t + o(\Delta t) \quad (40)$$

I tassi di transizione portano ad una master equation (o Kolmogorov forward equation) che descrive l'evoluzione temporale di  $X$ , come in (17)

$$\frac{X_i(t+\Delta t) - X_i(t)}{\Delta t} = \sum_{j \neq i} e_{ij} X_j(t) - \sum_{v \neq i} e_{vi} X_i(t) + \frac{o(\Delta t)}{\Delta t} \quad (41)$$

Costruiamo ora un grafo  $G_X$  associato al processo markoviano  $X$ , mettendo come vertici gli stati di  $X$  e facendo un collegamento  $j \rightarrow i$  se e solo se  $e_{ij} \neq 0$  e dando al collegamento l'indice  $e_{ij}$ . La matrice Laplaciana  $\mathcal{L}(G_X)$  è data da (28). Sostituendo in (41) e facendo il limite per  $\Delta t \rightarrow 0$  si trova che

$$\frac{dX_i(t)}{dt} = \sum_{j \neq i} [\mathcal{L}(G_X)_{ij} X_j(t) + \mathcal{L}(G_X)_{ii} X_i(t)] = (\mathcal{L}(G_X) \cdot X)_i \quad (42)$$

Per cui si ha il seguente teorema

**Teorema 4.11.** *Sia  $X$  un processo markoviano a tempo continuo e a stati finiti che è omogeneo nel tempo e per cui i tassi di transizione siano determinati da (38), allora la master equation di  $X$  è identica alla dinamica laplaciana del grafo  $G_X$*

$$\frac{dX(t)}{dt} = \mathcal{L}(G_X) \cdot X \quad (43)$$

Questo significa che se  $x_j(t)$  è la concentrazione di materiale nel vertice  $j$  al tempo  $t$  allora in un intervallo di tempo sufficientemente piccolo  $\Delta t$ , una concentrazione di materiale pari a  $\mathcal{L}(G)_{ij} \Delta t x_j(t) + o(\Delta t)$  sarà trasferita dall'indice  $j$  all'indice  $i$ . Ne consegue che la probabilità che una molecola in  $j$  sia trasferita in  $i$  nell'intervallo  $\Delta t$  è data da

$$\frac{\mathcal{L}(G)_{ij} \Delta t x_j(t)}{x_j(t)} = \mathcal{L}(G)_{ij} \Delta t + o(\Delta t)$$

**Corollario 4.12.** *Sia  $G$  un grafo e si supponga che la dinamica laplaciana di  $G$  sia interpretata statisticamente per dare un processo markoviano continuo nel tempo sui vertici. Se  $u_i(t)$  denota la probabilità di trovare una molecola nel vertice  $i$  al tempo  $t$ , allora  $u(t)$  obbedisce alla stessa dinamica laplaciana*

$$\frac{du(t)}{dt} = \mathcal{L}(G_X) \cdot u(t) \quad (44)$$

## 5 Classi di chemical master equation

Le master equation possono essere divise in categorie in base a tre proprietà principali:

- La **presenza di stati assorbenti**, ovvero stati stabili in cui l'evoluzione del sistema si arresta.
- La **dipendenza dallo stato iniziale**, ovvero la sensibilità della distribuzione stazionaria dallo stato di partenza.
- La **limitatezza dello spazio degli stati**, ovvero se, dato un certo stato di partenza, gli stati visitabili sono in numero finito o infinito.

Ciascuna combinazione di fattori cambia il tipo di informazioni che si possono ottenere dalla master equation in questione ed il modo in cui le si possono ottenere.

Si è visto che una master equation è un caso particolare dell'equazione di C-K per catene di Markov discrete al primo ordine in tempo continuo. Applicare questo formalismo ad un sistema chimico porta a scrivere quella che viene chiamata **Chemical Master Equation** (CME). Questa ha come vettore degli stati ogni possibile configurazione del numero di molecole e come costanti di flusso di probabilità delle costanti che dipendono dai rate di cinetica chimica. La **velocità di una reazione** è strettamente legata a concetti probabilistici e si ritrova quindi in una formulazione equivalente anche nella scrittura delle master equation corrispondenti a processi chimici.

Una reazione del tipo  $A + B \rightarrow C$  è governata da una legge cinetica del tipo

$$\frac{d}{dt}[C] = k_r[A][B] \quad (45)$$

dove le quantità fra parentesi indicano concentrazioni. Il significato statistico di questa formula è la combinazione della probabilità di incontro di due molecole delle specie considerate moltiplicate per una costante che rappresenta la probabilità che queste molecole si incontrino con angolazioni favorevoli e con velocità sufficiente.

Per reazioni con coefficienti stechiometrici diversi da uno, come  $aA + bB \rightarrow cC$ , la cinetica chimica corrispondente risulta

$$\frac{d}{dt}[C] = \frac{k_r}{c}[A]^a[B]^b \quad (46)$$

Questo tipo di dinamica non può essere riportato in maniera diretta nella scrittura della CME e richiede una comprensione almeno parziale del fenomeno sottostante, poiché a seconda del tipo di reazione in atto si devono usare delle funzioni fattoriali incomplete o inserire esplicitamente nella master equation la presenza di composti intermedi.

Una ipotesi di fondo che è bene ricordare è la cosiddetta **one step ipotesis**: consiste nel considerare gli eventi in modo sequenziale per quanto distanziati da tempi anche molto ridotti, senza mai prendere in considerazione due processi contemporaneamente. Questa ipotesi, data la relativa rarità degli eventi chimico-fisici rappresentati dalle reazioni rispetto alla loro durata, è considerata essere sempre valida.

## 5.1 Processi di decadimento

I **processi di decadimento** sono i più semplici di tutti i processi studiabili con la master equation. Questi processi implicano la distruzione della sostanza  $S$  presa in considerazione con probabilità costante nel tempo, ottenendo quindi una curva di decrescita di tipo esponenziale. Usando le caratteristiche citate precedentemente per classificare la CME, per il processo di decadimento

- sono presenti stati assorbenti
- non dipende dallo stato iniziale (il sistema converge sempre allo stato finale di sistema vuoto)
- gli stati sono finiti, una volta fissato il numero di particelle  $N$

L'equazione di campo medio e la corrispondente soluzione sono

$$\frac{d}{dt}[S] = -k_d[S] \quad S(t) = S(0)e^{-k_d t} \quad (47)$$

La CME corrispondente viene scritta in termini di  $n_S$ , ovvero il numero di particelle di  $S$  presenti

$$\frac{d}{dt}P(n_S, t) = -k_d n_S P(n_S, t) + k_d (n_S + 1) P(n_S + 1, t) \quad (48)$$

ovvero la probabilità di trovarsi in un certo stato  $n_S$  dipende da quanta probabilità entra dallo stato  $n_S + 1$  e quanta ne esce per via del decadimento dello stato  $n_S$  stesso. Nell'ingresso di probabilità proveniente dallo stato  $n_S + 1$  la probabilità dipende da  $n_S + 1$ , ossia dal numero di particelle dello stato iniziale. In generale ad ogni reazione corrisponde un termine di **efflusso** ed uno di **influsso** di probabilità.

Se le specie chimiche in gioco sono due,  $A$  e  $B$  (dove si indicano con  $A$  e  $B$  anche  $n_A$  e  $n_B$ ) governate da due costanti di decadimento  $k_{dA}$  e  $k_{dB}$ , allora

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}P(A, B, t) = & + k_{dA}(A + 1)P(A + 1, B, t) + \\ & + k_{dB}(B + 1)P(A, B + 1, t) - \\ & - (k_{dA}A + k_{dB}B)P(A, B, t) \end{aligned} \quad (49)$$

Per alleggerire la notazione è utile introdurre gli **operatori di Van Kampen**  $\mathbb{E}_A^{+N}$  e  $\mathbb{E}_A^{-N}$ , simili in struttura agli operatori di incremento e decremento utilizzati in meccanica quantistica. La loro azione su una funzione  $P(A, B, \dots, Z)$  è data da

$$\mathbb{E}_A^{\pm N} P(A, B, \dots, Z) = P(A \pm N, B, \dots, Z) \quad (50)$$

con questo formalismo la CME di decadimento a due specie diventa

$$\frac{d}{dt} P(A, B, t) = (\mathbb{E}_A^{+1} - 1) k_{dA}(A) P(A, B, t) + (\mathbb{E}_B^{+1} - 1) k_{dB}(B) P(A, B, t) \quad (51)$$

Da notare che gli operatori con pedice positivo implicano processi di distruzione e non di creazione: il flusso di probabilità infatti in questo caso è dallo stato più numeroso a quello meno numeroso, e si ha perciò una progressiva diminuzione del numero di molecole coinvolte.

## 5.2 Processi di creazione e distruzione

Processi nei quali una certa molecola  $A$  viene creata dal nulla con probabilità costante e decade con probabilità esponenziale:  $\emptyset \rightarrow A \rightarrow \emptyset$ . Se  $k_d$  è la costante cinetica di distruzione e  $k_c$  quella di creazione

$$\frac{d}{dt} P(A, t) = (\mathbb{E}_A^{+1} - 1) k_d A P + (\mathbb{E}_A^{-1} - 1) k_c P \quad (52)$$

Questo processo si stabilizza intorno ad una media che risulta essere pari a  $\frac{k_c}{k_d}$  e la sua distribuzione stazionaria è una distribuzione di Poisson con quella media. Questo tipo di processo viene normalmente utilizzato per rappresentare una termalizzazione con un bagno chimico esterno, in cui la sostanza  $A$  entra per diffusione (considerata costante) ed esce in modo proporzionale a quanto contenuto nello spazio considerato. Questo tipo di CME:

- non ha nessun punto assorbente
- non dipende dallo stato di partenza
- il numero degli stati accessibili è illimitato superiormente (l'illimitatezza superiore esiste ogniqualevolta sia presente un termine di creazione costante, indipendente da altri parametri).

## 5.3 Processi di interconversione

Questo tipo di processo rappresenta la fluttuazione di una molecola fra due stati differenti, ad esempio fra le due conformazioni di una proteina che si deforma e torna indietro per

effetto delle fluttuazioni termiche. Chiamando i due stati A e B, la rappresentazione grafica è  $A \xrightleftharpoons[k_a]{k_b} B$ . In questo tipo di sistemi si ha un decadimento simil-esponenziale da uno stato all'altro e ritorno, per cui la probabilità di transizione da A a B sarà proporzionale al numero di particelle nello stato A per una costante  $k_a$ , ed una transizione di questo tipo ridurrà di uno il numero di particelle in A e lo aumenterà di uno per quelle in B. Specularmente per la transizione da B ad A. La CME risulta

$$\frac{d}{dt}P(A, B, t) = (\mathbb{E}_A^{+1}\mathbb{E}_B^{-1} - 1) k_a AP + (\mathbb{E}_A^{-1}\mathbb{E}_B^{+1} - 1) k_b BP \quad (53)$$

Anche questo processo si assesta su una distribuzione stabile, ma con fluttuazioni meno accentuate. Al contrario del processo di creazione e distruzione infatti questa reazione è limitata dal massimo numero di molecole presenti  $N = A + B$ . La distribuzione a cui tende lo stato A è una binomiale con media  $N \frac{k_a}{k_a + k_b}$ .

Nel caso di processi di interconversione tra  $m$  specie chimiche differenti (come quelli che saranno considerate in seguito) la distribuzione risultante sarà una multinomiale della forma

$$p(n_1, \dots, n_m) = N! \prod_{i=1}^m \frac{p_i^{n_i}}{n_i!} \quad \text{con} \quad \sum_{i=1}^m n_i = N, \quad \sum_{i=1}^m p_i = 1 \quad (54)$$

La CME di questo sistema:

- non presenta stati assorbenti
- dipende dalle condizioni iniziali (il numero N di molecole)
- ha un numero di stati accessibili limitato

## 5.4 Processi di combinazione

Questo tipo di processi rappresenta l'unione di due sostanze per formarne una terza, di solito tramite un legame molecolare dove successivamente una reazione di dissociazione permette di tornare dalla molecola composta a quelle originali. Può essere utilizzato anche per situazioni concettualmente più complicate ma riducibili ad un modello equivalente, come l'attivazione del DNA da parte dell'enzima RNA-polimerasi.

Lo schema della reazione è  $A+B \xrightleftharpoons[k_d]{k_i} C$ , con  $k_d$  costante cinetica della reazione diretta e  $k_i$  di quella inversa. Questo tipo di reazione ha una particolarità molto importante rispetto alle precedenti: le equazioni di base sono di tipo non lineare. La CME risulta

$$\frac{d}{dt}P(A, B, C, t) = (\mathbb{E}_A^{+1}\mathbb{E}_B^{+1}\mathbb{E}_C^{-1} - 1) k_d ABP + (\mathbb{E}_A^{-1}\mathbb{E}_B^{-1}\mathbb{E}_C^{+1} - 1) k_i CP \quad (55)$$

Questo tipo di reazione è detta **binaria**, in quanto coinvolge due molecole ed ha come requisito il loro urto prima che possa avvenire una reazione. Al contrario delle reazioni viste finora quindi questa reazione è sensibile non solo al numero di molecole presenti ma anche allo spazio disponibile per il movimento, quanto rapidamente possono diffondere in questo spazio, alla pressione locale, ... . Normalmente queste considerazioni sono racchiuse nel parametro cinetico della reazione, ma spesso si rendono necessarie alcune considerazioni: se ad esempio una delle due specie, diciamo B, è in numero estremamente maggiore dell'altra, in modo che si possa fare l'approssimazione  $B - A \simeq B$  allora le equazioni si possono riscrivere come un processo di interconversione fra A e C in cui il numero totale di molecole di B diventa una costante. Questa approssimazione è detta di **pseudo primo ordine**, ed è una delle maggiormente utilizzate.

## 5.5 Processi di dimerizzazione

Questa classe di processi è un caso particolare di quelli di combinazione, in cui i due substrati sono identici:  $A + A \leftrightarrow A_2$ . La dinamica di questo processo sarebbe  $\frac{d}{dt}[A] = -k_d[A]^2$ , siccome si sta richiedendo l'incontro di due molecole di A, ma dal calcolo combinatorio si ottiene  $A(A - 1)/2$  e non  $A^2$ . La CME di questo sistema si può scrivere allora come

$$\frac{d}{dt}P(A, A_2, t) = (\mathbb{E}_A^{+2}\mathbb{E}_{A_2}^{-1} - 1)k_d\frac{A(A - 1)}{2}P + (\mathbb{E}_A^{-2}\mathbb{E}_{A_2}^{+1} - 1)k_iA_2P \quad (56)$$

## 5.6 Processi di catalisi

Un processo è detto di **catalisi** se una delle sostanze che entra nella reazione non viene alterata da questa ma ha solo il ruolo di favorire (o permettere) il suo procedere. Caso tipico è una reazione di tipo enzimatico in cui l'enzima entra solo come intermediario con lo scopo di facilitare la transizione fra due stati molecolari, accelerando anche di milioni di volte la sua velocità naturale.

Questi processi si rappresentano come  $A + B \rightarrow A + C$ , in cui A si comporta da catalizzatore, ed entra solamente nel calcolo della velocità di reazione senza venirne influenzato. La CME risultante è di tipo irreversibile, a meno che un altro processo non intervenga a riportare il sistema da C a B.

$$\frac{d}{dt}P(A, B, C, t) = (\mathbb{E}_B^{+1}\mathbb{E}_C^{-1} - 1)k_dABP \quad (57)$$

La soluzione di questo sistema è del tutto identica ad un decadimento esponenziale di B (e conseguente produzione di C).

Due casi particolari di questo processo sono i cosiddetti processi di **scavenging** (pulizia) e **factoring** (fabbricazione). Nel primo il catalizzatore distrugge la specie B senza produrre alcunché (o producendo sostanze non considerate nel sistema), nel secondo il

catalizzatore produce dal nulla molecole di C. Quest'ultimo caso è molto comune se i componenti di base di C (ovvero B) vengono considerati estremamente numerosi (e rinnovabili), tanto da poter effettuare un'approssimazione di cinetica di primo ordine in A. Il caso più importante del secondo tipo di processi è la sintesi di RNA a partire dal DNA (ignorando le molecole di RNA-polimerasi) e la generazione di proteine a partire da una molecola di RNA (ignorando i ribosomi).

## 5.7 Compartmentalizzazione e diffusione

Molti processi biologici hanno luogo in sedi ben precise della cellula, come il nucleo, i mitocondri, le vescicole cellulari o addirittura l'interno e l'esterno della cellula nel caso dei canali ionici. Per fare modelli di questo tipo è necessario modellizzare anche la diffusione fra due compartimenti della cellula, distinguendo le reazioni che hanno luogo dentro e fuori di essa, utilizzando i cosiddetti **compartimenti cellulari**, che permettono di separare i meccanismi cellulari di regioni diverse mettendo formalmente delle etichette ai nomi delle sostanze e permettendo poi una diffusione da un compartimento all'altro (processo di primo ordine).

Ad esempio si supponga di avere due compartimenti, *in* e *out* per rappresentare l'esterno e l'interno di una vescicola, e due molecole A e B che hanno una reazione di interconversione tra loro. Se la membrana è permeabile alla sola A, avremo delle equazioni a 4 specie,  $A_{in}$ ,  $B_{in}$ ,  $A_{out}$ ,  $B_{out}$  con una conversione (che rappresenta la diffusione) fra  $A_{in}$  ed  $A_{out}$ .

$$\begin{aligned}
 \frac{d}{dt}P(A_{in}, B_{in}, A_{out}, B_{out}, t) = & + (\mathbb{E}_{A_{in}}^{+1} \mathbb{E}_{B_{in}}^{-1} - 1) k_1 A_{in} P + \\
 & + (\mathbb{E}_{A_{in}}^{-1} \mathbb{E}_{B_{in}}^{+1} - 1) k_2 B_{in} P + \\
 & + (\mathbb{E}_{A_{out}}^{+1} \mathbb{E}_{B_{out}}^{-1} - 1) k_3 A_{out} P + \\
 & + (\mathbb{E}_{A_{out}}^{-1} \mathbb{E}_{B_{out}}^{+1} - 1) k_4 B_{out} P + \\
 & + (\mathbb{E}_{A_{out}}^{+1} \mathbb{E}_{A_{in}}^{-1} - 1) k_5 A_{out} P
 \end{aligned} \tag{58}$$

Questo approccio di modellizzazione di master equation è definito **Reaction Diffusion Chemical Master Equation**.

L'aggiunta di una componente spaziale alle equazioni aggiunge molti gradi di libertà al sistema permettendo nuovi comportamenti, al prezzo di un costo computazionale estremamente aggravato. È inoltre importante non eccedere con la riduzione del volume di questi compartimenti poiché al di sotto di una certa dimensione si introducono artefatti numerici per cui le molecole smettono di reagire fra loro e si ottiene una diffusione pura. Il limite di dimensione del compartimento è legato al cosiddetto **raggio di interazione molecolare**, che può essere anche diverse volte la dimensione lineare tipica della molecola.

Siccome l'interno della cellula è un posto estremamente affollato di macromolecole (**molecular crowding**), in certe condizioni questo fenomeno rende anomala la diffusione di proteine ed altri composti di grandi dimensioni, ovvero non segue la relazione di diffusione di Einstein  $\langle \sigma^2 \rangle \propto t$  ma leggi di superdiffusione o subdiffusione. Questi fenomeni sono estremamente difficili da riportare in una master equation, rendendo necessari altri approcci a scala inferiore, come la simulazione dinamica molecolare.

# Risoluzione di una CME

## 6 Metodi esatti

Le CME sono equazioni perfettamente risolvibili in linea di principio ma nella realtà praticamente inaffrontabili per il gran numero di equazioni che si devono affrontare. Esistono però diversi metodi per ottenere risultati esatti, che possono essere utilizzati direttamente o come procedura di controllo per il test degli algoritmi di simulazione.

### 6.1 Metodo dell'espansione lineare

Questo metodo si basa sulla condizione di DB ed è quindi un metodo esatto solo in sistemi monodimensionali, in cui l'equilibrio dettagliato è sempre realizzato, al contrario dei sistemi a più dimensioni in cui questo non è garantito. La condizione di DB (20) permette di esprimere in modo ricorsivo le probabilità di ogni stato  $p_n$  in funzione di  $p_{n-1}$ , fino a risalire a  $p_0$ . Anche in una sola dimensione questo è possibile solo nel caso in cui

- le transizioni siano permesse solo fra stati adiacenti, ovvero fra  $n - 1$  e  $n$  e ritorno. Se questo non fosse vero (cosa molto rara in un sistema chimico) l'ipotesi di DB non sarebbe più valida e con essa smetterebbe di essere possibile questo sviluppo.
- il sistema sia indivisibile, ovvero non deve essere composto di sottosistemi separati.

La distribuzione stazionaria risultante risulta pertanto essere

$$p_n^s = p_0 \frac{\prod_{k=0}^n \frac{\lambda_{k,k-1}}{\lambda_{k-1,k}}}{\sum_{k=0}^{\infty} p_k} \quad (59)$$

L'indivisibilità è richiesta altrimenti le  $\lambda_{k-1,k}$  andrebbero a zero facendo divergere la sommatoria. Numericamente si fissa un valore per  $p_0$  (solitamente 1) si calcolano tutte le altre probabilità ed infine si normalizzano.

## 6.2 Metodo della funzione generatrice dei momenti

Questa funzione è strettamente legata alla trasformata di Laplace. La definizione della **funzione generatrice dei momenti** è la seguente

$$G(s, t) = \sum_{k=0}^n p_k(t) s^k \quad \frac{\partial}{\partial t} G(s, t) = \sum_{k=0}^n s^k \frac{\partial}{\partial t} p_k(t) \quad (60)$$

Con  $s \in \mathbb{C}$ . Questa funzione permette di generare i momenti della distribuzione di probabilità, caratterizzandola perciò completamente, tramite la relazione

$$\mu_n = \left. \frac{\partial G(s)}{\partial s} \right|_{s=0} \quad (61)$$

La proprietà più importante di questa funzione è che se le transizioni del sistema sono riducibili alla somma di più distribuzioni indipendenti (ad esempio una serie di molecole che non interagiscono fra di loro) è possibile ottenere il comportamento dell'intero sistema tramite un prodotto delle rispettive funzioni generatrici. Questo genere di sistemi semplici è di solito esprimibile come un prodotto di binomiali in varie dimensioni (una per specie chimica), il cui risultato è una funzione multinomiale.

Un approccio più riduttivo a questo metodo è il semplice calcolo dell'evoluzione nel tempo di alcuni momenti della distribuzione, quali la media e la varianza del sistema.

$$\langle k \rangle = \sum_{j=0}^{\infty} \sum_{k=0}^{\infty} k p(k, j, t) \quad , \quad \langle k^2 \rangle = \sum_{j=0}^{\infty} \sum_{k=0}^{\infty} k^2 p(k, j, t) \quad (62)$$

Questo metodo permette di

- ottenere una stima corretta dei momenti, senza trascurare le varie distorsioni dovute all'interazione non lineare con il rumore, come farebbe una stima di campo medio. La stima della varianza permette inoltre di determinare quando le equazioni di campo medio contengono tutta l'informazione interessante o quando invece sono un'approssimazione inaccettabile.
- decidere quando è possibile fare il limite al continuo ovvero considerare il numero di particelle praticamente infinito (questa possibilità dipende però anche da altri parametri).

## 6.3 Metodo di risoluzione agli autovalori

È un metodo di risoluzione brute force tramite il computer. Consiste sostanzialmente nell'enumerare uno per uno tutti gli stati accessibili al sistema considerando ogni possibile transizione a partire da ogni stato. In questo modo è possibile scrivere esplicitamente la

matrice delle transizioni, calcolarne esplicitamente varie proprietà e (in linea di principio) ogni possibile comportamento del sistema. Alcune proprietà che possono essere calcolate sono

- lo stato stazionario, calcolando il kernel della matrice
- lo stato metastabile, dal calcolo degli autovalori
- l'evoluzione diretta
- la connettività del sistema, ovvero se è possibile separarlo in sottosistemi più o meno indipendenti.

Questo metodo ha come limitazioni la potenza di calcolo del processore, che deve essere notevole, e può essere applicato solo a sistemi che possono visitare un numero limitato di stati.

## 7 Metodi numerici: Stochastic Simulation Algorithms (SSA), metodo di Gillespie

Questo approccio si basa sui metodi Montecarlo, che sfruttano la generazione di numeri pseudocasuali da parte del computer per simulare un sistema soggetto a rumore per un lungo tempo ed un gran numero di ripetizioni fino ad ottenere una buona statistica di osservazioni e, sfruttando il teorema ergodico, ricavarne la distribuzione stazionaria. I metodi più utilizzati si basano sul **metodo di Gillespie**, ideato nel 1971 ma che utilizza un algoritmo scritto da Daniel Goob nel 1945. Questo algoritmo è estremamente semplice e, nei limite della convergenza, è statisticamente esatto. Si inizia da un certo stato noto a priori e a partire dalle reazioni definite calcola quanto tempo trascorrerà prima che la successiva reazione abbia luogo e quale fra le reazioni possibili avverrà. La probabilità di rimanere in un certo stato  $k$  per un tempo  $t$  è definita come

$$p(k, t) = e^{-\lambda_{kk}t} \quad \text{con } \lambda_{kk} = \sum_{i \neq k} \lambda_{ki} \quad (63)$$

Da cui è possibile estrarre in modo casuale l'effettivo tempo di residenza tramite la generazione di un numero casuale fra 0 ed 1

$$t = -\ln(\text{rand}(0, 1))\lambda_{kk}^{-1} \quad (64)$$

A questo punto l'algoritmo decide quale fra le varie reazioni deve aver luogo, sempre estraendo un numero casuale e confrontando fra loro le probabilità relative delle varie reazioni. La probabilità di seguire il canale di reazione  $i$  diventa quindi pari a

$$p(i) = \frac{\lambda_{ki}}{\lambda_{kk}} \quad (65)$$

Ripetendo questi due passi di volta in volta è possibile simulare un'intera catena di reazioni ben localizzate nel tempo, ottenendo quindi l'andamento nel tempo di tutte le sue componenti.

Il difetto principale di questo algoritmo è che aumentando il numero di reazioni e di molecole coinvolte il tempo medio fra le reazioni diminuisce rapidamente, richiedendo molti step per simulare l'intervallo di tempo virtuale che si desidera osservare e rendendo spesso troppo onerosa la simulazione. I due punti di maggior interesse per le ottimizzazioni risultano perciò

- la riduzione dei calcoli ripetuti per le rate di reazione
- la riduzione dei tempi di sorting per la scelta della reazione

# Termodinamica di non equilibrio in termini della master equation

## 8 Introduzione

Per sviluppare una termodinamica di non equilibrio occorre richiamare il concetto di bilancio dettagliato, inserendolo nel contesto termodinamico, e definire lo **stato stazionario di non equilibrio** (NESS). Il primo riguarda sistemi chiusi o isolati, il secondo sistemi aperti.

La caratterizzazione termodinamica dei sistemi in equilibrio deriva la sua giustificazione dalla meccanica statistica di equilibrio, la quale afferma che per un sistema in contatto con un bagno di calore la probabilità di trovarlo in un qualsiasi microstato è proporzionale al **fattore di Boltzmann**  $e^{-k_B t}$ .

In contrasto coi sistemi in equilibrio termico, i sistemi lontani dall'equilibrio sono caratterizzati da flussi non nulli di quantità fisiche come energia o particelle. Questi flussi sono indotti e mantenuti accoppiando il sistema con diversi "serbatoi", che possono agire da sorgenti o da assorbitori.

La termodinamica di non equilibrio qui si applica a piccoli sistemi ed è descritta da una distribuzione di probabilità  $p_n$  che evolve secondo una master equation markoviana. In termini di questa il sistema può raggiungere due tipi di soluzione stazionaria dopo un intervallo temporale sufficientemente lungo.

- L'equilibrio è un caso particolare di stato stazionario, ottenuto con sistemi chiusi o isolati, ed è associato alla condizione di bilancio dettagliato (DB), cioè questi sistemi non scambiano molecole ed energia con l'ambiente circostante e la concentrazione di tutte le specie chimiche è costante macroscopicamente. I sistemi chiusi possono raggiungere solo equilibri con flussi nulli in ogni reazione.
- I NESS sono invece legati a sistemi aperti che scambiano molecole ed energia con l'ambiente, mantenendo comunque a livello macroscopico le concentrazioni e le fluttuazioni stazionarie. Questi sistemi esistono solamente quando i flussi sono sostenuti da input di energia chimica.

## 9 Termodinamica di equilibrio

La termodinamica di equilibrio è definita da un insieme di parametri (misurati macroscopicamente) che specificano uno stato termodinamico. L'**ensemble canonico** è caratterizzato da un sistema chiuso che può scambiare calore con l'ambiente circostante. Per ottenere le variabili termodinamiche necessarie per descriverlo bisogna estremizzare l'**entropia di Gibbs**

$$S = -k_B \sum_i p_i \ln p_i \quad (66)$$

dove si richiede la normalizzazione della probabilità  $\sum_i p_i = 1$  e che l'energia media abbia un valore fisso  $\langle U \rangle$  dato da  $\sum_i u_i p_i = \langle U \rangle$ . Con queste ipotesi si ottiene che la **distribuzione canonica di equilibrio** è

$$p_i^e = \frac{e^{-\frac{u_i}{k_B T}}}{Z} \quad (67)$$

dove  $Z$  è la **funzione di partizione canonica**  $Z = \sum_i e^{-\frac{u_i}{k_B T}}$  e  $u_i = k_B T \ln Z_i$ . Da questo si ricava che  $S$  ha il suo massimo per  $p_i = p_i^e$ , per tutte le distribuzioni con  $\langle U \rangle$  costante. L'energia immagazzinata nel sistema e riutilizzabile sotto forma di lavoro è chiamata **energia libera**.

Per l'ensemble canonico si definisce l'**energia libera di Helmholtz** come  $F = U - TS$ . Per un processo ottenuto a temperatura  $T$ , volume  $V$  e numero di molecole  $N$  costanti

$$\Delta F \leq -\Delta W \quad (68)$$

dove  $\Delta W$  è il lavoro fatto nel sistema. Se nessun lavoro è compiuto  $\Delta F \leq 0$ , per cui uno stato di equilibrio è uno stato di minimo di  $F$ .

Nella termodinamica classica è centrale il secondo principio, il quale afferma che la produzione di entropia totale non può mai diminuire ma solamente aumentare monotonamente fino al raggiungimento del suo massimo, corrispondente allo stato di equilibrio

$$\frac{dS}{dt} \geq 0 \quad (69)$$

Questa affermazione si applica a stati in cui l'entropia è ben definita, ma spesso si può assumere con buona approssimazione che il sistema sia in uno stato di equilibrio locale, in modo che l'entropia sia ben definita in ogni stadio del processo di trasformazione. Successivamente questa formulazione verrà estesa a sistemi che scambiano energia e materia con l'ambiente esterno.

## 10 Termodinamica di non equilibrio

Per estendere il secondo principio della termodinamica a sistemi non in equilibrio serve un'espressione esplicita per la produzione di entropia. Per sistemi aperti si può notare che la variazione di entropia  $dS$  ha due contributi

$$dS = d_iS + d_eS \quad (70)$$

uno interno, dato dalla produzione di S interna al sistema da processi spontanei ( $d_iS$ ), ed uno esterno, dovuto al trasferimento attraverso i confini del sistema ( $d_eS$ ). Per la seconda legge della termodinamica  $d_iS$  deve essere zero per trasformazioni reversibili e positiva per quelle irreversibili. L'entropia fornita  $d_eS$  può essere invece positiva, nulla o negativa a seconda delle modalità di interazione del sistema con l'ambiente. Solo i processi irreversibili contribuiscono alla produzione di entropia, in quanto nello stato stazionario il sistema continua a scambiare energia con l'ambiente per mantenere lo stato di NESS.

Nella formulazione della termodinamica degli stati stazionari (SST) così come l'entropia ha due contributi, anche il calore  $Q_{tot}$  è composto da una parte interna (**housekeeping**)  $Q_{hk}$  e da una parte in eccesso (**excess**)  $Q_{ex}$  (vedi Figura 1). Siccome siamo in una NESS viene dissipata energia come calore ( $Q_{hk}$ ) per mantenere lo stato stazionario, quindi per definizione il calore in eccesso è ottenuto dalla differenza tra  $Q_{tot}$  e  $Q_{hk}$

$$Q_{ex} \equiv Q_{tot} - Q_{hk} \quad (71)$$

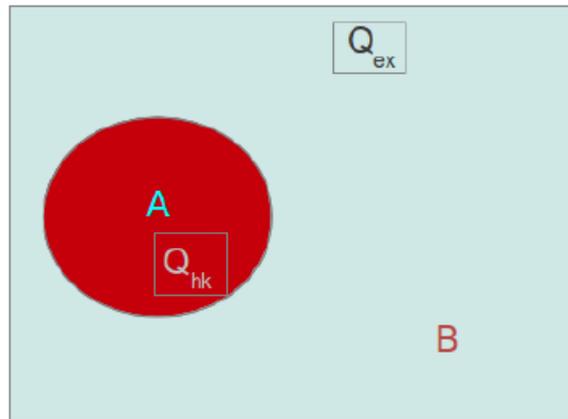


Figura 1:  $Q_{hk}$  e  $Q_{ex}$  per un sistema A a contatto con un bagno termico B

Per sistemi all'equilibrio  $Q_{ex}$  si riduce a  $Q_{tot}$  perché in questo caso il sistema non dissipa energia e  $Q_{hk} = 0$ . L'estensione del secondo principio della termodinamica per

transizioni tra stati stazionari e la differenza di entropia sono legati al  $Q_{ex}$  prodotto in un processo infinitamente lento. Siccome la formulazione SST deve ricondursi alla termodinamica di equilibrio nel limite appropriato, si può pensare a  $Q_{ex}$  come ad un cambiamento di entropia generalizzata nel caso della SST. Se si considerano sistemi in contatto con un singolo bagno di calore di temperatura  $T$ , la seconda legge della SST è

$$T\Delta S \geq -Q_{ex} \quad (72)$$

L'entropia generalizzata  $\Delta S$  tra due stati stazionari può essere misurata come  $\frac{-Q_{ex}}{T}$  per un processo lento che connette questi due stati, permettendo così di darle una definizione operativa per NESS sperimentalmente, misurando il  $Q_{ex}$  ottenuto in un processo lento tra un NESS e uno stato di equilibrio (la cui entropia è nota).

## 11 Termodinamica di non equilibrio basata sulla master equation

Lo scopo ora è quello di derivare le variabili di non equilibrio in termini della master equation. La forma generica di una master equation è data da (17)

$$\frac{dp_i(t)}{dt} = \sum_j [W_{i,j} p_j(t) - W_{j,i} p_i(t)] \quad (73)$$

Dalla definizione di entropia (66) si può calcolare la sua derivata, ponendo  $k_B = 1$

$$\begin{aligned} \frac{dS(t)}{dt} &= - \left[ \sum_i \frac{dp_i(t)}{dt} \ln p_i + \sum_i p_i \frac{1}{p_i} \frac{d}{dt} p_i \right] = \\ &= - \sum_i \frac{dp_i(t)}{dt} \ln p_i - \frac{d}{dt} \sum_i p_i = \\ &= - \sum_i \frac{dp_i(t)}{dt} \ln p_i \end{aligned} \quad (74)$$

Dove nell'ultimo passaggio il termine  $\frac{d}{dt} \sum_i p_i$  è nullo per la condizione di normalizzazione  $\sum_i p_i = 1$ . Inserendo la (73) in (74) si ottiene

$$\frac{dS(t)}{dt} = - \sum_{i,j} [W_{i,j} p_j(t) - W_{j,i} p_i(t)] \ln p_i \quad (75)$$

Scambiando gli indici  $i, j$  e riscrivendo (75) come

$$\begin{aligned} \frac{dS(t)}{dt} = & -\frac{1}{2} \sum_{i,j} [W_{i,j} p_j(t) - W_{j,i} p_i(t)] \ln \frac{W_{i,j} p_i}{W_{i,j} p_j} + \\ & + \frac{1}{2} \sum_{i,j} [W_{i,j} p_j(t) - W_{j,i} p_i(t)] \ln \frac{W_{j,i}}{W_{i,j}} \end{aligned} \quad (76)$$

Dalla definizione di entropia per la termodinamica di non equilibrio (70) si ottiene anche

$$\frac{dS(t)}{dt} = \frac{d_i S(t)}{dt} - \frac{d_e S(t)}{dt} = e_p(t) - h_d(t) \quad (77)$$

Dove con  $e_p(t)$  si indica la **produzione istantanea di entropia** e con  $-h_d(t)$  il **tasso di dissipazione di calore**. Si ha quindi che

$$e_p = -\frac{1}{2} \sum_{i,j} [W_{i,j} p_j(t) - W_{j,i} p_i(t)] \ln \frac{W_{i,j} p_i}{W_{i,j} p_j} \quad (78)$$

e

$$h_d = -\frac{1}{2} \sum_{i,j} [W_{i,j} p_j(t) - W_{j,i} p_i(t)] \ln \frac{W_{j,i}}{W_{i,j}} \quad (79)$$

Per collegare  $e_p$  e  $h_d$  alle variabili termodinamiche di equilibrio si utilizza l'energia libera di Helmholtz

$$F = U - S \quad , \quad S = -F + U \quad \Rightarrow \quad \frac{dS(t)}{dt} = -\frac{dF(t)}{dt} = +\frac{dU(t)}{dt} = e_p - h_d \quad (80)$$

Il significato fisico di  $e_p$  e  $h_d$  è quindi  $e_p = -\frac{dF(t)}{dt}$ ,  $h_d = -\frac{dU(t)}{dt}$ , per cui si ottiene il collegamento voluto tra le variabili termodinamiche e la master equation

$$\frac{1}{2} \sum_{i,j} [W_{i,j} p_j(t) - W_{j,i} p_i(t)] \ln \frac{W_{i,j} p_i}{W_{i,j} p_j} = \frac{dF(t)}{dt} \quad (81)$$

$$\frac{1}{2} \sum_{i,j} [W_{i,j} p_j(t) - W_{j,i} p_i(t)] \ln \frac{W_{j,i}}{W_{i,j}} = \frac{dU(t)}{dt} \quad (82)$$

Quando il sistema presenta la condizione di DB, per  $t \rightarrow \infty$  esso raggiunge uno stato di equilibrio con  $e_p = h_d = \frac{dS(t)}{dt} = 0$ . Per i sistemi in NESS la condizione di DB è violata e vi è un continuo flusso di energia entrante nel sistema, per cui si avrà  $e_p = h_d \neq 0$ . Il fatto che  $e_p$  e  $h_d$  siano uguali è una condizione necessaria affinché S sia finito asintoticamente e che  $\frac{dS(t)}{dt} = 0$ .

# Esempio: dinamica di una reazione chimica a catena tra $m$ specie diverse

## 12 Modello

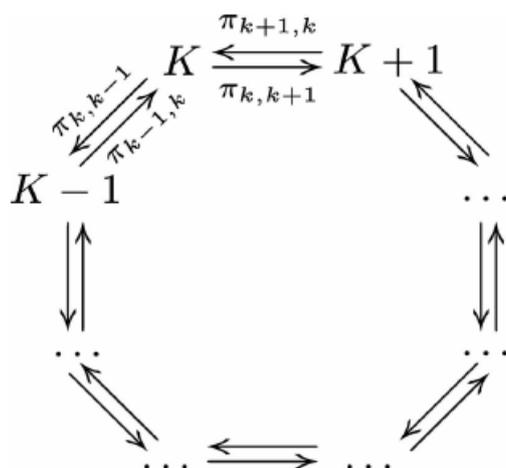


Figura 2: Reazione chimica a catena tra  $m$  specie diverse. Ogni transizione è regolata dal proprio tasso di transizione, dipendente in generale dal numero di particelle in tale stato.

Consideriamo una reazione chimica a catena tra  $m$  specie chimiche diverse, con le seguenti assunzioni

1. ogni particella è indipendente
2. essendo un ciclo si impone una condizione al contorno  $m + 1 \sim 1$
3. il numero totale di particelle è costante  $|n| = \sum_{k=1}^m n_k = N$

Dalla prima ipotesi si deduce che i tassi di transizione dalla specie  $k - 1$  alla specie  $k$  sono dati da  $\pi_{k-1,k}(n) n_{k-1}$ , dove  $\pi_{k-1,k}(n)$  è la probabilità di transizione di una singola

particella in un intervallo di tempo unitario e  $n_{k-1}$  è il numero di particelle della specie  $k - 1$ . Essendo questo un processo di interconversione la CME per l'evoluzione della distribuzione di probabilità  $p(n, t)$  è del tipo (53), per cui si ha

$$\begin{aligned} \dot{p}(n, t) = & \sum_k [(\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- - 1) \pi_{k-1,k}(n) n_{k-1} p(n, t) + \\ & + (\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ - 1) \pi_{k,k-1}(n) n_k p(n, t)] \end{aligned} \quad (83)$$

Dove  $\mathbb{E}_k^\pm$  sono gli operatori di Van Kampen definiti in (50)

$$\mathbb{E}_k^\pm f(n) = f(n_1, \dots, n_k \pm 1, \dots, n_m) \quad n \in \mathbb{N}^m, \forall f(n) \text{ funzione} \quad (84)$$

La matrice di transizione di questa reazione è

$$\begin{pmatrix} -\pi_{2,1} - \pi_{m,1} & \pi_{1,2} & 0 & 0 & 0 & \dots & \pi_{1,m} \\ \pi_{2,1} & -\pi_{1,2} - \pi_{3,2} & \pi_{2,3} & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \pi_{3,2} & -\pi_{2,3} - \pi_{4,3} & \pi_{3,4} & 0 & \dots & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & -\pi_{m,m-1} - \pi_{m-2,m-1} & \pi_{m-1,m} \\ \pi_{m,1} & 0 & \dots & \dots & \dots & \pi_{m,m-1} & -\pi_{1,m} - \pi_{m-1,1} \end{pmatrix}$$

Per scrivere l'equazione (83) come Kolmogorov forward equation, si introduce l'**operatore differenza**  $D_k^\pm$

$$D_k^+ \equiv \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- - 1 \quad D_k^- \equiv \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ - 1 \quad (85)$$

Con questa notazione è possibile interpretare la CME come un'equazione di continuità discreta nell'iperpiano  $\{|n| = N\}$  con gli operatori  $D_k^\pm$ , considerando tutti i cambi  $\Delta n$  nella dinamica. Eseguendo i calcoli come in Appendice A, si ottiene la forma cercata di  $J_k(n, t)$

$$J_k(n, t) = (-\pi_{k-1,k}(n) n_{k-1} + \pi_{k,k-1}(n) n_k) p(n, t) + D_k^- \pi_{k,k-1}(n) n_k p(n, t) \quad (86)$$

Definiamo ora

$$A_k(n) = -\pi_{k-1,k}(n) n_{k-1} + \pi_{k,k-1}(n) n_k \quad , \quad B_k(n) = \pi_{k,k-1}(n) n_k \quad (87)$$

Dove  $A_k(n)$  è il **campo di corrente** (collegato alla dinamica media del sistema) e  $B_k(n)$  è il **coefficiente di diffusione**. In questo modo si ha

$$\dot{p}(n, t) = - \sum_k D_k^+ [A_k(n) p(n, t) + D_k^- B_k(n) p(n, t)] \quad (88)$$

E i flussi diventano

$$J_k(n, t) = A_k(n) p(n, t) + D_k^- B_k(n) p(n, t) \quad (89)$$

Per vedere come  $A_k(n)$  sia collegato alla dinamica media si supponga che esista un sottoinsieme  $\Gamma \subseteq \{|n| = N\}$  che obbedisce alla regola (A.6) t.c. la distribuzione  $p_n(t)$  sia nulla sul contorno. Utilizzando l'equazione del campo medio  $\langle n_k \rangle_\Gamma = \sum_\Gamma n_k p_n(t)$  si ha allora

$$\begin{aligned} \langle \dot{n}_k \rangle_\Gamma &= \sum_\Gamma n_k \dot{p}_n(t) = - \sum_\Gamma n_k D_k^+ J_k \simeq \\ &\simeq - \sum_\Gamma D_k^+(n_k + 1) J_k(n) - \sum_\Gamma J_k(n) - \\ &- \sum_\Gamma D_{k+1}^+(n_k - 1) J_{k+1}(n) + \sum_\Gamma J_{k+1}(n) \simeq \end{aligned}$$

Usando la definizione (89) si ottiene

$$\simeq \sum_\Gamma [(A_{k+1}(n) - A_k(n))p_n(t) - (D_{k+1}^+ B_{k+1}(n) - D_k^+ B_k(n))p_n(t)] \simeq$$

Usando la relazione (A.6), si osserva che il termine  $(D_{k+1}^+ B_{k+1}(n) - D_k^+ B_k(n))p_n(t)$  è nullo, allora

$$\simeq \sum_\Gamma A_{k+1}(n)p_n(t) - \sum_\Gamma A_k(n)p_n(t) = \langle A_{k+1}(n) \rangle_\Gamma - \langle A_k(n) \rangle_\Gamma$$

con  $k = 1, \dots, m$ . Le equazioni del campo medio sono quindi

$$\langle \dot{n}_k \rangle_\Gamma \simeq \langle A_{k+1}(n) \rangle_\Gamma - \langle A_k(n) \rangle_\Gamma \quad (90)$$

L'approssimazione di campo medio può essere applicato a queste equazioni su  $\Gamma$  se

$$\langle \dot{n}_k \rangle \simeq A_{k+1}(\langle n \rangle) - A_k(\langle n \rangle) \quad \text{per } k=1, \dots, m \quad (91)$$

Di conseguenza questa approssimazione viene applicata correttamente quando le fluttuazioni sono piccole rispetto ai valori medi, e diventa esatta quando le probabilità di transizione  $\pi_{k-1,k}$  sono costanti (ossia quando le particelle sono indipendenti), come si può notare scrivendo esplicitamente la (91)

$$\begin{aligned} \langle \dot{n}_k \rangle &\simeq -\pi_{k,k+1}(\langle n \rangle)n_k + \pi_{k+1,k}(\langle n \rangle)n_{k+1} + \\ &+ \pi_{k-1,k}(\langle n \rangle)n_{k-1} - \pi_{k,k-1}(\langle n \rangle)n_k \end{aligned}$$

In questo caso in cui le  $\pi$  sono costanti, la CME è lineare e la soluzione può essere calcolata esplicitamente nella forma di una distribuzione multinomiale

$$p_e(t) = N! \prod_{k=1}^m \frac{\lambda_k^{n_k}(t)}{n_k!} \quad \text{con } |n|=N \quad (92)$$

dove le  $\lambda_k$  sono le soluzioni non triviali del sistema lineare

$$\dot{\lambda}_k = -\pi_{k,k+1}\lambda_k + \pi_{k+1,k}\lambda_{k+1} + \pi_{k-1,k}\lambda_{k-1} - \pi_{k,k-1}\lambda_k \quad (93)$$

con  $|\lambda| = \sum_{k=1}^m \lambda_k = 1$ ,  $\lambda_k > 0$ .

Per  $t \rightarrow \infty$  si ha una soluzione stazionaria con  $\lambda_k(t) \xrightarrow{t \rightarrow \infty} \lambda_k^*$ , infatti

$$\dot{\lambda}_k^* \simeq 0 \Rightarrow A_{k+1}(n^*) = A_k(n^*) \Rightarrow A_{k+1}(N\lambda^*) = A_k(N\lambda^*)$$

in quanto  $n^* \simeq N\lambda^*$  è il valore massimo della distribuzione stazionaria  $p_e^s$ . Quindi nel caso lineare il valore critico della distribuzione stazionaria corrisponde a un punto fisso stabile del sistema medio.

## 13 Proprietà termodinamiche della CME

La CME serve a modellizzare sia l'evoluzione di sistemi all'equilibrio (per cui vale la condizione di DB  $J_k^s(n) = 0$ ) che i NESS, per cui vale la condizione più debole  $\sum_k D_k^+ J_k^s(n) = 0$ . Un approccio termodinamico è stato proposto per caratterizzare le proprietà della distribuzione stazionaria  $\dot{p}_n^s(t) = 0$ . Analizziamo prima il caso di DB.

### 13.1 DB

In questo caso

$$J_k^s(n) = 0 \Rightarrow D_k^- B_k(n) p_n^s = -A_k(n) p_n^s \quad (94)$$

Usando la relazione

$$D_k^- \ln p_n^s = \ln \left( \frac{\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ p_n^s}{p_n^s} \right) = \ln \left( 1 + \frac{D_k^- p_n^s}{p_n^s} \right) \quad (95)$$

usando la (94) e la proprietà (A.3) si ottiene

$$D_k^- \ln p_n^s = \ln \left( 1 - \frac{A_k(n) + D_k^- B_k(n)}{\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ B_k(n)} \right) \quad (96)$$

Questa formula permette di calcolare la distribuzione  $p_n^s$  in modo ricorsivo usando qualsiasi cammino che connetta un punto fisso  $n_0$  con un altro punto generico sulla superficie  $|n| = N$ . Definiamo un' **energia interna di interazione**  $V(n)$

$$D_k^- V(n) = -\ln \left( 1 - \frac{A_k(n) + D_k^- B_k(n)}{\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ B_k(n)} \right) \quad (97)$$

e un' **energia interna**  $E(t)$

$$E(t) = \sum_{|n|=N} V(n) p(n, t) \quad (98)$$

Da ciò si può concludere che in presenza di DB la distribuzione di equilibrio può essere scritta come una distribuzione di Maxwell-Boltzmann, in analogia a (67)

$$p_n^s \propto e^{-V(n)} \quad (99)$$

## 13.2 NESS

Nel caso della NESS le correnti chimiche stazionarie  $J_k^s(n) \neq 0$ . Questo fenomeno può essere associato all'esistenza di un campo esterno  $A_k^{ex}$  che porta alla divisione del campo di corrente  $A_k$  in due componenti, una interna ed una esterna

$$A_k(n) = A_k^{in}(n) + A_k^{ex}(n) \quad (100)$$

$A_k^{ex}(n)$  è un campo esterno non conservativo che genera i flussi stazionari

$$A_k^{ex}(n) = \frac{J_k^s(n)}{p_n^s} \quad (101)$$

e  $A_k^{in}(n)$  è un campo conservativo interno il cui potenziale soddisfa  $V^{in}(n) = -\ln p_n^s$ . È bene sottolineare che questo splitting è possibile solamente se si è a conoscenza sia di  $p_n^s$  che di  $J_k^s(n)$ . La produzione di entropia risulta (vedi Appendice B)

$$\dot{S}_{in} = \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \frac{J_k^2(n)}{p_n(t) D_k^- B_k(n)} - \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} J_k(n, t) \frac{A_k(n) + D_k^- B_k(n)}{D_k^- B_k(n)} \quad (102)$$

Confrontando con (70), dove  $\dot{S}_{in} = \dot{S}_{tot} - \dot{S}_{en}$  si vede che

$$\dot{S}_{tot} = \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \frac{J_k^2(n)}{p_n(t) D_k^- B_k(n)} \quad \dot{S}_{en} = \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} J_k(n, t) \frac{A_k(n) + D_k^- B_k(n)}{D_k^- B_k(n)} \quad (103)$$

Dove  $\dot{S}_{tot}$  è la **produzione totale di entropia** e  $\dot{S}_{en}$  è la **produzione di entropia dell'ambiente**. In condizioni stazionarie  $\dot{S}_{in}^s = 0$ , per cui

$$\dot{S}_{in}^s = - \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- J_k(n, t) D_k^+ V^{in} = 0 \quad (104)$$

Con  $V^{in}(n) = -\ln p_n^s$ , come in (101). Questo significa che il lavoro medio delle correnti dovuto alle interazioni interne è zero per un NESS e di conseguenza si osserva che la

produzione totale di entropia stazionaria è sempre positiva, in quanto per mantenere la distribuzione stazionaria l'ambiente sta scambiando energia col sistema attraverso il lavoro fatto su di esso, che poi è dissipato. Al contrario in un equilibrio DB la produzione totale di entropia è zero per cui non c'è dissipazione di lavoro.

Usando la decomposizione (100) è possibile modulare il campo esterno cambiando il termine di corrente in questo modo

$$\hat{A}_k(n) = A_k(n) - \lambda A_k^{ex}(n) \quad (105)$$

Dove  $\lambda$  è un parametro ( $\lambda = 0$  corrisponde al caso iniziale,  $\lambda = 1$  all'equilibrio DB quando i campi esterni sono nulli). È inoltre possibile dimostrare che la distribuzione stazionaria non dipende da  $\lambda$  (vedi Appendice C). Definiamo il nuovo vettore di corrente stazionaria come

$$\hat{J}_k^s(n) = J_k^s(n) - \lambda A_k^{ex}(n) p_n^s = (1 - \lambda) J_k^s(n) \quad (106)$$

Si osserva che dai calcoli fatti finora non sembra conveniente per un sistema creare NESS a causa dei costi energetici ed entropici che comporta, nonostante ciò la CME modella molte reazioni biochimiche che nel processo di rilassamento tendono verso NESS. Occorrerà studiare più approfonditamente gli effetti dei flussi negli stati transienti e nei processi di rilassamento verso le distribuzioni stazionarie per avere una visione più completa del fenomeno.

## 14 Esempio di dinamica di una reazione chimica a catena tra 3 specie diverse

Lo scopo di questa sezione è il calcolo del tempo di rilassamento di una CME lineare nel caso di equilibrio DB e NESS per meglio comprendere l'influenza dei flussi di non equilibrio nel comportamento del sistema. Verrà studiato il sistema schematizzato in Figura 3, che è un caso particolare a soli 3 stati distinti del sistema generico a  $m$  stati trattato precedentemente.

Le equazioni deterministiche di campo centrale sono

$$\begin{aligned} \dot{n}_A &= -\pi_{AB}n_A - \pi_{AC}n_A + \pi_{BA}n_B + \pi_{CA}n_C \\ \dot{n}_B &= -\pi_{BA}n_B - \pi_{BC}n_B + \pi_{AB}n_A + \pi_{CB}n_C \\ \dot{n}_C &= -\pi_{CA}n_C - \pi_{CB}n_C + \pi_{AC}n_A + \pi_{BC}n_B \end{aligned} \quad (107)$$

dove  $n_A, n_B, n_C$  sono il numero di molecole delle specie A, B, C, e tali che  $n_A + n_B + n_C = N$ . La CME (83) associata a questo processo è

$$\begin{aligned} \dot{p}_n(t) &= \mathbb{E}_C^+ \mathbb{E}_A^- \pi_{CA} n_C p_n(t) - \pi_{AC} n_A p_n(t) + \mathbb{E}_A^+ \mathbb{E}_B^- \pi_{BA} n_B p_n(t) - \pi_{AB} n_A p_n(t) + \\ &+ \mathbb{E}_A^+ \mathbb{E}_B^- \pi_{AB} n_A p_n(t) - \pi_{BA} n_B p_n(t) + \mathbb{E}_B^+ \mathbb{E}_C^- \pi_{CB} n_C p_n(t) - \pi_{BC} n_B p_n(t) + \\ &+ \mathbb{E}_B^+ \mathbb{E}_C^- \pi_{BC} n_B p_n(t) - \pi_{CB} n_C p_n(t) + \mathbb{E}_C^+ \mathbb{E}_A^- \pi_{AC} n_A p_n(t) - \pi_{CA} n_C p_n(t) \end{aligned} \quad (108)$$

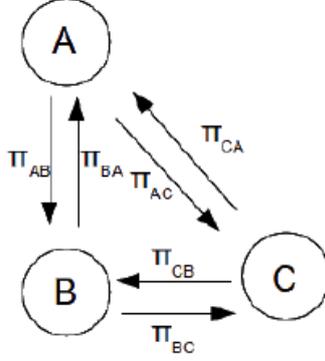


Figura 3: Reazione chimica a catena tra 3 specie diverse. Essendo la CME lineare i tassi di transizione sono costanti.

Per la (92) la distribuzione delle particelle segue una distribuzione multinomiale

$$p_n(t) = N! \frac{\lambda_A(t)\lambda_B(t)\lambda_C(t)}{n_A!n_B!n_C!} \quad (109)$$

dove  $\lambda_A(t)$ ,  $\lambda_B(t)$ ,  $\lambda_C(t)$  sono le soluzioni del sistema lineare (93)

$$\begin{aligned} \dot{\lambda}_A &= -(\pi_{AB} + \pi_{AC})\lambda_A(t) + \pi_{BA}\lambda_B(t) + \pi_{CA}\lambda_C(t) \\ \dot{\lambda}_B &= \pi_{AB}\lambda_A(t) - (\pi_{BA} + \pi_{BC})\lambda_B(t) + \pi_{CB}\lambda_C(t) \\ \dot{\lambda}_C &= \pi_{AC}\lambda_A(t) + \pi_{BC}\lambda_B(t) - (\pi_{CA} + \pi_{CB})\lambda_C(t) \end{aligned} \quad (110)$$

sotto la condizione  $\lambda_A(t) + \lambda_B(t) + \lambda_C(t) = 1$ . La soluzione di stato stazionario  $p_n^s$  è calcolata eseguendo il limite  $t \rightarrow \infty$  nell'equazione (109), e i valori limite  $\lambda^s$  possono essere calcolati esplicitamente

$$\begin{aligned} \lambda_A^s &\propto \pi_{BA}\pi_{CA} + \pi_{BC}\pi_{CA} + \pi_{BA}\pi_{CB} \\ \lambda_B^s &\propto \pi_{AB}\pi_{CA} + \pi_{AB}\pi_{CB} + \pi_{AC}\pi_{CB} \\ \lambda_C^s &\propto \pi_{AC}\pi_{BA} + \pi_{AB}\pi_{BC} + \pi_{AC}\pi_{BC} \end{aligned} \quad (111)$$

Per un calcolo esplicito dei flussi si riduce la dimensionalità usando

$$n_A = n_x \quad , \quad n_B = n_y \quad , \quad n_C = N - n_x - n_y$$

La (108) diventa

$$\begin{aligned} \dot{p}_{n_x, n_y}(t) &= (\mathbb{E}_x^+ \mathbb{E}_y^- - 1)\pi_{AB}n_x p_{n_x, n_y}(t) + (\mathbb{E}_x^- \mathbb{E}_y^+ - 1)\pi_{BA}n_y p_{n_x, n_y}(t) + \\ &\quad + (\mathbb{E}_x^- - 1)\pi_{CA}(N - n_x - n_y)p_{n_x, n_y}(t) + \\ &\quad + (\mathbb{E}_y^- - 1)\pi_{CB}(N - n_x - n_y)p_{n_x, n_y}(t) + \\ &\quad + (\mathbb{E}_x^+ - 1)\pi_{AC}n_x p_{n_x, n_y}(t) + \\ &\quad + (\mathbb{E}_y^+ - 1)\pi_{BC}n_y p_{n_x, n_y}(t) \end{aligned} \quad (112)$$

Scrivendo la (112) come un'equazione di continuità senza vincoli

$$\dot{p}_{n_x, n_y}(t) = -D_x^+ J_x(n_x, n_y) - D_y^+ J_y(n_x, n_y) \quad (113)$$

Dove  $D_x^\pm = \mathbb{E}_x^\pm$  e  $D_y^\pm = \mathbb{E}_y^\pm$ . Si identificano i flussi

$$J_x(n_x, n_y) = J_A(n) - J_B(n) \quad J_y(n_x, n_y) = J_B(n) - J_C(n)$$

Si ha perciò

$$\begin{aligned} J_x(n_x, n_y) &= -(\pi_{AB} \mathbb{E}_y^- n_x - \pi_{BA} \mathbb{E}_x^- n_y + \pi_{AC} n_x - \pi_{CA} \mathbb{E}_x^-(N - n_x - n_y)) p_{n_x, n_y}(t) \\ J_y(n_x, n_y) &= -(\pi_{BA} \mathbb{E}_x^- n_y - \pi_{AB} \mathbb{E}_y^- n_x + \pi_{BC} n_y - \pi_{CB} \mathbb{E}_y^-(N - n_x - n_y)) p_{n_x, n_y}(t) \end{aligned} \quad (114)$$

Sostituendo la forma esplicita della soluzione stazionaria  $p_{n_x, n_y}^s$  (109) in (114) si possono determinare i flussi stazionari di non equilibrio  $J_x^s$  e  $J_y^s$

$$\begin{aligned} J_x(n_x, n_y) &= \left( \frac{\pi_{BA} n_x n_y (\lambda_A^s)^{-1} \lambda_C^s}{N - n_x - n_y + 1} - \frac{\pi_{AB} n_x n_y (\lambda_B^s)^{-1} \lambda_C^s}{N - n_x - n_y + 1} + \right. \\ &\quad \left. + \pi_{CA} n_x (\lambda_A^s)^{-1} \lambda_C^s - \pi_{AC} n_x \right) p_{n_x, n_y}^s \\ J_y(n_x, n_y) &= \left( \frac{\pi_{AB} n_x n_y (\lambda_B^s)^{-1} \lambda_C^s}{N - n_x - n_y + 1} - \frac{\pi_{BA} n_x n_y (\lambda_A^s)^{-1} \lambda_C^s}{N - n_x - n_y + 1} + \right. \\ &\quad \left. + \pi_{CB} n_y (\lambda_B^s)^{-1} \lambda_C^s - \pi_{BC} n_y \right) p_{n_x, n_y}^s \end{aligned} \quad (115)$$

Scriviamo i flussi nella forma (94)

$$\begin{aligned} J_x(n_x, n_y) &= A_x(n_x, n_y) p_{n_x, n_y} - D_x^- B_{xx} p(n_x - 1, n_y) - D_y^- B_{xy} p(n_x, n_y - 1) \\ J_y(n_x, n_y) &= A_y(n_x, n_y) p_{n_x, n_y} - D_x^- B_{yx} p(n_x - 1, n_y) - D_y^- B_{yy} p(n_x, n_y - 1) \end{aligned} \quad (116)$$

Per cui il vettore corrente  $A(n_x, n_y)$  risulta

$$\begin{aligned} A_x(n_x, n_y) &= -(\pi_{AB} + \pi_{AC}) n_x + \pi_{BA} n_y + \pi_{CA} (N - n_x - n_y) \\ A_y(n_x, n_y) &= \pi_{AB} n_x - (\pi_{BA} + \pi_{BC}) n_y + \pi_{CB} (N - n_x - n_y) \end{aligned} \quad (117)$$

E la matrice di diffusione

$$\left( \begin{array}{cc} B = \pi_{BA} n_y + \pi_{CA} (N - n_x - n_y + 1) & -\pi_{AB} n_x \\ -\pi_{BA} n_y & \pi_{AB} n_x + \pi_{CB} (N - n_x - n_y + 1) \end{array} \right) \quad (118)$$

A questo punto si definisce il campo esterno  $A^{ex}$  legato ai flussi di non equilibrio

$$\begin{aligned} J_x^s(n_x, n_y) &= A_x^{ex}(n_x, n_y) p_{n_x, n_y}^s \\ J_y^s(n_x, n_y) &= A_y^{ex}(n_x, n_y) p_{n_x, n_y}^s \end{aligned} \quad (119)$$

I flussi di non equilibrio sono ortogonali al gradiente di probabilità se vale la seguente

$$J^s(n_x + 1, n_y)D_x^+ p_{n_x, n_y}^s + J^s(n_x, n_y + 1)D_y^+ p_{n_x, n_y}^s = 0 \quad (120)$$

Per provare questa uguaglianza si applicano gli operatori  $D_x^+$  e  $D_y^+$  a  $p_{n_x, n_y}^s$

$$D_x^+ p_{n_x, n_y}^s = \left( \frac{(N - n_x - n_y)\lambda_A^s (\lambda_C^s)^{-1}}{n_x + 1} - 1 \right) p_{n_x, n_y}^s$$

$$D_y^+ p_{n_x, n_y}^s = \left( \frac{(N - n_x - n_y)\lambda_B^s (\lambda_C^s)^{-1}}{n_y + 1} - 1 \right) p_{n_x, n_y}^s$$

Per cui

$$\begin{aligned} & J^s(n_x + 1, n_y)D_x^+ p_{n_x, n_y}^s + J^s(n_x, n_y + 1)D_y^+ p_{n_x, n_y}^s = \\ & = \left( \frac{(N - n_x - n_y)\lambda_A^s (\lambda_C^s)^{-1}}{n_x + 1} - 1 \right) + \\ & \left( \frac{\pi_{BA}n_x n_y (\lambda_A^s)^{-1} \lambda_C^s}{N - n_x - n_y} - \frac{\pi_{AB}n_x n_y (\lambda_B^s)^{-1} \lambda_C^s}{N - n_x - n_y} + \pi_{CA}n_x (\lambda_A^s)^{-1} \lambda_C^s - \pi_{AC}n_x \right) p_{n_x, n_y}^s + \\ & + \left( \frac{(N - n_x - n_y)\lambda_B^s (\lambda_C^s)^{-1}}{n_y + 1} - 1 \right) + \\ & + \left( \frac{\pi_{AB}n_x n_y (\lambda_B^s)^{-1} \lambda_C^s}{N - n_x - n_y} - \frac{\pi_{BA}n_x n_y (\lambda_A^s)^{-1} \lambda_C^s}{N - n_x - n_y} + \pi_{CB}n_y (\lambda_B^s)^{-1} \lambda_C^s - \pi_{BC}n_y \right) p_{n_x, n_y}^s = 0 \end{aligned}$$

Questo significa che in una NESS il lavoro del campo interno  $A^{in}$  sui flussi chimici è nullo in ogni punto  $(n_x, n_y)$  visto che le curve di livello della distribuzione stazionaria coincidono con le linee del campo dei flussi chimici.

Per calcolare il tempo di rilassamento verso la distribuzione stazionaria si sfrutta il fatto che una distribuzione multinomiale sia completamente determinata dai suoi valori medi. Successivamente verrà studiata la dinamica media (107) scritta in termini di  $n_x$  e  $n_y$

$$\begin{aligned} \dot{n}_x &= -(\pi_{AB} + \pi_{AC})n_x + \pi_{BA}n_y + \pi_{CA}(N - n_x - n_y) \\ \dot{n}_y &= \pi_{AB}n_x - (\pi_{BA} + \pi_{BC})n_y + \pi_{CB}(N - n_x - n_y) \end{aligned} \quad (121)$$

Il processo di rilassamento verso i valori limite  $N\lambda_A^s$ ,  $N\lambda_B^s$  è un esponenziale il cui esponente sono gli autovalori di (121).

Per studiare gli effetti dei flussi chimici moduliamo il campo esterno che produce i flussi cambiando il termine di corrente secondo  $\hat{A}_k(n) = A_k(n) - \lambda A_k^{ex}(n)$ , come in (105). In questo modo si cambiano i flussi di non equilibrio senza modificare la distribuzione stazionaria. Dalla (106) si ottiene

$$\begin{aligned} \hat{J}_x(n_x, n_y, t) &= J_x(n_x, n_y, t) - \lambda A_x^{ex}(n_x, n_y)p(n_x, n_y, t) \\ \hat{J}_y(n_x, n_y, t) &= J_y(n_x, n_y, t) - \lambda A_y^{ex}(n_x, n_y)p(n_x, n_y, t) \end{aligned}$$

È conveniente impostare  $\lambda = 1 + \epsilon$ , in questo modo  $\epsilon = 0$  corrisponde alla condizione di DB, e variando  $\epsilon$  si porta il sistema a una condizione di NESS. Dalla (113) si ha

$$\begin{aligned} \dot{p}(n_x, n_y, t) = & -D_x^+(J_x(n_x, n_y, t) - (1 + \epsilon)A_x^{ex}(n_x, n_y)p(n_x, n_y, t)) - \\ & -D_y^+(J_y(n_x, n_y, t) - (1 + \epsilon)A_y^{ex}(n_x, n_y)p(n_x, n_y, t)) \end{aligned} \quad (122)$$

dove

$$\begin{aligned} A_x^{ex}(n_x, n_y) &= \frac{\pi_{BA}n_x n_y (\lambda_A^s)^{-1} \lambda_C^s}{N - n_x - n_y + 1} - \frac{\pi_{AB}n_x n_y (\lambda_B^s)^{-1} \lambda_C^s}{N - n_x - n_y + 1} + \\ & \quad + \pi_{CA}n_x (\lambda_A^s)^{-1} \lambda_C^s - \pi_{AC}n_x \\ A_y^{ex}(n_x, n_y) &= \frac{\pi_{AB}n_x n_y (\lambda_B^s)^{-1} \lambda_C^s}{N - n_x - n_y + 1} - \frac{\pi_{BA}n_x n_y (\lambda_A^s)^{-1} \lambda_C^s}{N - n_x - n_y + 1} + \\ & \quad + \pi_{CB}n_y (\lambda_B^s)^{-1} \lambda_C^s - \pi_{BC}n_y \end{aligned}$$

È importante sottolineare che i campi esterni non sono linearmente dipendenti da  $n_x$  e  $n_y$ , per cui non si possono calcolare in modo esatto le equazioni medie. La soluzione a questo problema si ottiene applicando l'approssimazione di campo medio (91) in quanto questa permette di ottenere buoni risultati quando si è in prossimità del punto critico della distribuzione  $p_{n_x, n_y}(t)$ . Di conseguenza si ha

$$\begin{aligned} \langle \dot{n}_x \rangle = & - \left( \pi_{AB} + \pi_{AC} + \pi_{CA} + (1 + \epsilon) \frac{\partial A_x^{ex}(n_x, n_y)}{\partial n_x \Big|_{n_x^*}} \right) \langle n_x \rangle + \\ & + \left( \pi_{BA} - \pi_{CA} - (1 + \epsilon) \frac{\partial A_x^{ex}(n_x, n_y)}{\partial n_y \Big|_{n_y^*}} \right) \langle n_y \rangle \\ \langle \dot{n}_y \rangle = & - \left( \pi_{AB} - \pi_{CB} - (1 + \epsilon) \frac{\partial A_y^{ex}(n_x, n_y)}{\partial n_x \Big|_{n_x^*}} \right) \langle n_x \rangle - \\ & - \left( \pi_{BA} + \pi_{BC} + \pi_{BC} + (1 + \epsilon) \frac{\partial A_y^{ex}(n_x, n_y)}{\partial n_y \Big|_{n_y^*}} \right) \langle n_y \rangle \end{aligned} \quad (123)$$

Per valutare il tempo di rilassamento si calcolano gli autovalori  $\alpha_k$  del sistema (123) e si definisce come **tempo di rilassamento caratteristico**  $\tau = \frac{1}{\text{Min}|\text{Re}(\alpha_1, \alpha_2)|}$ .

Nel grafico in Figura 4 è rappresentato  $\|p_{n_x, n_y}(t) - p_{n_x, n_y}^s\|$  in funzione di  $\tau$  e il cambiamento di  $\tau$  in funzione di  $\epsilon$ , che mostra una dipendenza lineare della norma dei

flussi stazionari di non equilibrio  $\|J^s\|$  rispetto a  $\epsilon$ . Si nota inoltre che il  $\tau$  decresce mentre i flussi aumentano e si stabilizza intorno a un valore fisso oltre un valore critico di  $\epsilon$ , dove non è più affetto dai flussi chimici. Questo è spiegato dal fenomeno di biforcazione degli autovalori dell'equazione (123), come si può notare in Figura 5.

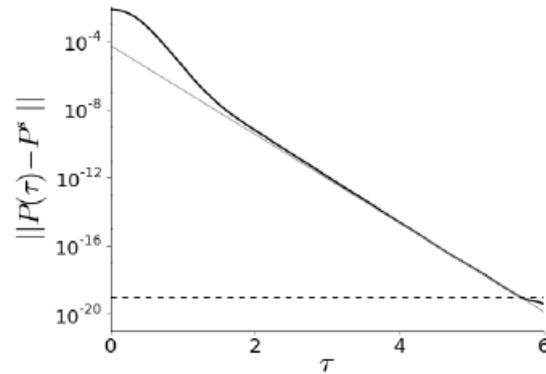


Figura 4:  $\|p_{n_x, n_y}(t) - p_{n_x, n_y}^s\|$  in funzione di  $\tau$ . la linea nera rappresenta il  $\|p_{n_x, n_y}(t) - p_{n_x, n_y}^s\|$  dalla simulazione. La linea grigia il comportamento previsto di  $\tau$ . La linea tratteggiata la precisione della simulazione

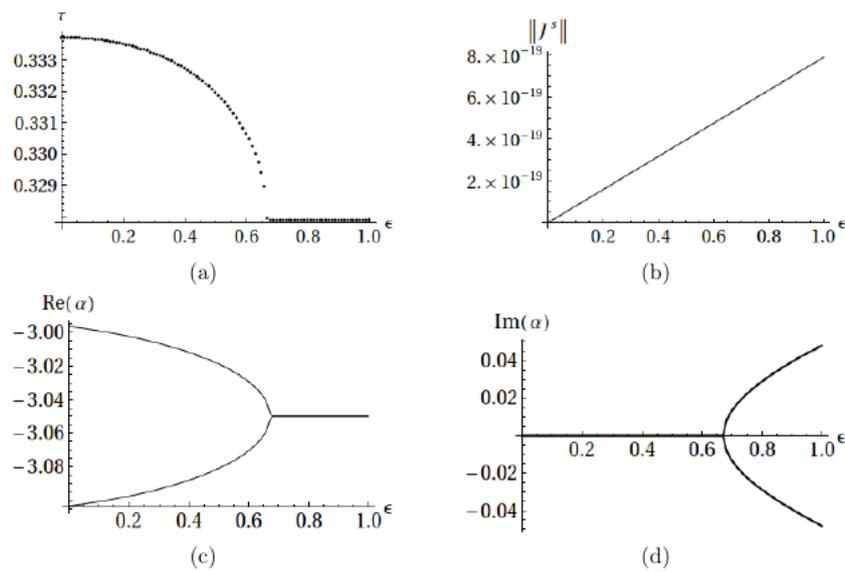


Figura 5: (a)  $\tau$ ,  $\epsilon$  (b)  $\|J^s\|$ ,  $\epsilon$  (c)  $\Re(\alpha)$ ,  $\epsilon$  (d)  $\Im(\alpha)$ ,  $\epsilon$ .

# Conclusioni

Nella prima parte si è visto come la struttura del grafo sottostante ad una data reazione chimica sia direttamente collegata alle proprietà della reazione stessa, soprattutto per quanto riguarda l'evoluzione verso uno stato stazionario (vedi 4.10). Inoltre è stato verificato che la dinamica laplaciana del grafo di un certo processo markoviano è identica alla master equation di tale processo (4.11).

Nell'ultima parte, usando la corrispondenza tra CME e Kolmogorov forward equation è stato dimostrato che i flussi chimici sono direttamente proporzionali a un campo esterno non conservativo e che l'effetto di questo campo sul sistema è legato direttamente alla produzione di entropia nella NESS, di conseguenza una modulazione di questo campo può cambiare i flussi senza modificare la distribuzione di probabilità stazionaria. È possibile perciò studiare l'effetto dei flussi sul tempo di rilassamento caratteristico della CME nel caso della NESS.

Il risultato principale trovato è che i flussi stazionari rispetto alla condizione di DB riducono il tempo di rilassamento caratteristico, a causa di un fenomeno di biforcazione degli autovalori della dinamica linearizzata intorno a un massimo locale della distribuzione di probabilità. Ci si può aspettare che questo sia un risultato generalizzabile alle CME non lineari che possano essere linearizzate intorno a un massimo locale. Dal punto di vista biochimico questo può avere alcune conseguenze rilevanti in quanto:

- Tutti i sistemi biologici sono sistemi aperti poiché scambiano materia con l'ambiente e consumano energia, spesso tramite idrolisi di ATP.
- Le reazioni di fosfo e defosforilazione sono ampiamente diffuse nei sistemi biologici.
- La fosforilazione e la defosforilazione ciclica delle proteine sono rilevanti per processi biologici cruciali quali la plasticità sinaptica, la segnalazione cellulare, la determinazione del destino cellulare, il tasso di trascrizione e molti altri, dove per "plasticità" si intende la capacità di raggiungere un certo stato molecolare come funzione delle condizioni ambientali.

Il ciclo chimico studiato qui può essere applicato anche ad altre modificazioni post-trascrizionali di proteine, come l'acetilazione, la metilazione e la glicosilazione, tutte

reazioni basate sull'addizione reversibile di un gruppo funzionale a proteine, che porta ad un'estensione del loro ruolo biologico. Una migliore e più profonda caratterizzazione dei cicli di segnalazione biochimici è quindi cruciale per avere una migliore comprensione della termodinamica dei sistemi biologici e biochimici.

# Appendice A

## Kolmogorov forward equation

Gli operatori  $D_k^\pm$  hanno le seguenti proprietà

1. È possibile trasformare  $D_k^-$  in  $D_k^+$  e viceversa

$$\begin{aligned} D_k^- &= \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ (1 - \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^-) = -D_k^+ \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ \\ D_k^+ &= \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- (1 - \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+) = -D_k^- \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- \end{aligned} \quad (\text{A.1})$$

2. Si può scrivere un Laplaciano discretizzato

$$\begin{aligned} -D_k^+ D_k^- &= -(\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- - 1)(\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ - 1) = -(1 - \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- - \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ + 1) = \\ &= \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- - 2 - \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ \end{aligned} \quad (\text{A.2})$$

3.  $D_k^\pm$  ha proprietà simili alla derivata:

$$\begin{aligned} D_k^+ f(n)g(n) &= (\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- - 1) f(n)g(n) = \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- f(n)D_k^+ g(n) + g(n)D_k^+ f(n) \\ D_k^- f(n)g(n) &= (\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ - 1) f(n)g(n) = \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ f(n)D_k^- g(n) + g(n)D_k^- f(n) \end{aligned} \quad (\text{A.3})$$

Per ogni funzione  $f(n), g(n)$ .

4. Vale la proprietà commutativa

$$D_k^\pm D_h^\pm = D_h^\pm D_k^\pm \quad (\text{A.4})$$

5. È possibile estendere la definizione di  $D_k^\pm$  a qualunque  $\Gamma \subseteq \{|n| = N\}$

$$D_k^+ \Gamma = \{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- \Gamma \setminus \Gamma\} \cup \{\Gamma \setminus \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- \Gamma\} \quad (\text{A.5})$$

$$D_k^- \Gamma = \{\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ \Gamma \setminus \Gamma\} \cup \{\Gamma \setminus \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ \Gamma\}$$

Inoltre si ha la relazione

$$\sum_{\Gamma} D_k^{\pm} f(n) = \sum_{D_k^{\pm} \Gamma} f(n) \quad \forall k \quad (\text{A.6})$$

Per cui se  $f(n)$  si annulla sul confine allora

$$\sum_{\Gamma} D_k^{\pm} f(n) = 0 \quad (\text{A.7})$$

$$\dot{p}(n, t) = - \sum_k D_k^+ J_k(n, t) \quad (\text{A.8})$$

Dove  $J_k(n, t)$  rappresenta i flussi chimici che ora verranno definiti in modo esplicito. Partendo dalla CME (83)

$$\begin{aligned} \dot{p}(n, t) &= \sum_k [D_k^+ \pi_{k-1, k}(n) n_{k-1} p(n, t) + D_k^- \pi_{k, k-1}(n) n_k p(n, t)] = \\ &= \sum_k [D_k^+ \pi_{k-1, k}(n) n_{k-1} p(n, t) - D_k^+ \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ \pi_{k, k-1}(n) n_k p(n, t)] = \end{aligned} \quad (\text{A.9})$$

Dove si è usata l'equivalenza (A.1)

$$\begin{aligned} &= \sum_k D_k^+ [\pi_{k-1, k}(n) n_{k-1} p(n, t) - \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ \pi_{k, k-1}(n) n_k p(n, t) + \\ &\quad + \pi_{k, k-1}(n) n_k p(n, t) - \pi_{k, k-1}(n) n_k p(n, t)] = \\ &= \sum_k D_k^+ [(\pi_{k-1, k}(n) n_{k-1} - \pi_{k, k-1}(n) n_k) p(n, t) - D_k^- \pi_{k, k-1}(n) n_k p(n, t)] = \\ &= - \sum_k D_k^+ [(-\pi_{k-1, k}(n) n_{k-1} + \pi_{k, k-1}(n) n_k) p(n, t) + D_k^- \pi_{k, k-1}(n) n_k p(n, t)] \end{aligned}$$

Da cui si ottiene la definizione cercata di  $J_k(n, t)$

$$J_k(n, t) = (-\pi_{k-1, k}(n) n_{k-1} + \pi_{k, k-1}(n) n_k) p(n, t) + D_k^- \pi_{k, k-1}(n) n_k p(n, t) \quad (\text{A.10})$$

Ottenendo la forma voluta (A.8), che è quella tipica di una Kolmogorov forward equation.

# Appendice B

## Produzione di entropia

Si consideri ora l'entropia di Gibbs (66) e scriviamo l'entropia interna

$$S_{in} = - \sum_{|n|=N} p_n(t) \ln p_n(t) \quad (\text{B.1})$$

Calcolandone la derivata si ottiene

$$\begin{aligned} \dot{S}_{in} &= - \sum_{|n|=N} [\dot{p}_n(t) \ln p_n(t) + p_n(t) \frac{1}{p_n(t)} \dot{p}_n(t)] = \\ &= - \sum_{|n|=N} \dot{p}_n(t) - \sum_{|n|=N} \dot{p}_n(t) \ln p_n(t) = \\ &= - \sum_{|n|=N} \dot{p}_n(t) \ln p_n(t) \end{aligned} \quad (\text{B.2})$$

Dove  $\sum_{|n|=N} \dot{p}_n(t) = 0$  per la condizione di normalizzazione.

Inserendo in (B.2)  $\dot{p}_n(t) = - \sum_{|n|=N} D_k^+ J_k(n, t)$  si ottiene

$$\dot{S}_{in} = \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} D_k^+ J_k(n, t) \ln p_n(t) \quad (\text{B.3})$$

Utilizzando la proprietà (A.3) si ha

$$\dot{S}_{in} = \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- J_k(n, t) D_k^+ \ln p_n(t) \quad (\text{B.4})$$

Se si considera  $D_k^+ p_n(t) \ll 1$  si può effettuare la seguente approssimazione

$$\begin{aligned} D_k^+ \ln p_n(t) &= \ln \left( \frac{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- p_n(t)}{p_n(t)} \right) = \ln \left( \frac{(D_k^+ + 1) p_n(t)}{p_n(t)} \right) = \\ &= \ln \left( 1 + \frac{D_k^+ p_n(t)}{p_n(t)} \right) \simeq \frac{D_k^+ p_n(t)}{p_n(t)} \end{aligned} \quad (\text{B.5})$$

Per cui risulta

$$\dot{S}_{in} = \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- J_k(n, t) \frac{D_k^+ p_n(t)}{p_n(t)} \quad (\text{B.6})$$

Per determinare il valore di  $\frac{D_k^+ p_n(t)}{p_n(t)}$  si considera la definizione di  $J_k(n, t)$  (89)

$$J_k(n, t) - A_k(n)p_n(t) = D_k^- B_k(n)p_n(t) = \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ p_n(t) D_k^- B_k(n) + B_k(n) D_k^- p_n(t)$$

Dove si è utilizzata la proprietà (A.3). Allora

$$B_k(n) D_k^- p_n(t) = J_k(n, t) - A_k(n)p_n(t) - \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ p_n(t) D_k^- B_k(n)$$

Se si dividono entrambi i lati per  $\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ p_n(t) B_k(n)$

$$\frac{D_k^- p_n(t)}{\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ p_n(t)} = \frac{J_k(n, t) - A_k(n)p_n(t)}{\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ p_n(t) B_k(n)} - \frac{D_k^- B_k(n)}{B_k(n)}$$

Utilizzando la proprietà (A.1)

$$\frac{\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ D_k^+ p_n(t)}{\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ p_n(t)} = \frac{J_k(n, t) - A_k(n)p_n(t)}{\mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+ p_n(t) B_k(n)} - \frac{D_k^- B_k(n)}{B_k(n)}$$

Moltiplicando per  $\frac{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^-}{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^-}$

$$\frac{D_k^+ p_n(t)}{p_n(t)} = \frac{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- (J_k(n, t) - A_k(n)p_n(t))}{p_n(t) B_k(n)} - \frac{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- D_k^- B_k(n)}{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- B_k(n)}$$

Inserendo questa espressione in (B.6)

$$\begin{aligned}
\dot{S}_{in} &= \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \left[ \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- J_k(n, t) \left( \frac{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- (J_k(n, t) - A_k(n) p_n(t))}{p_n(t) B_k(n)} - \frac{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- D_k^- B_k(n)}{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- B_k(n)} \right) \right] = \\
&= \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \left[ \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- J_k(n, t) \left( \frac{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- J_k(n, t)}{p_n(t) B_k(n)} - \frac{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- A_k(n) p_n(t)}{p_n(t) B_k(n)} - \frac{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- D_k^- B_k(n)}{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- B_k(n)} \right) \right] = \\
&= \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \frac{(\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- J_k(n, t))^2}{p_n(t) B_k(n)} - \\
&\quad - \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- J_k(n, t) \left( \frac{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- A_k(n) p_n(t)}{p_n(t) B_k(n)} + \frac{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- D_k^- B_k(n)}{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- B_k(n)} \right) = \\
&= \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \frac{(\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- J_k(n, t))^2}{p_n(t) B_k(n)} - \\
&\quad - \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- J_k(n, t) \frac{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- A_k(n) p_n(t) + \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- p_n(t) D_k^- B_k(n)}{\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- p_n(t) B_k(n)} = \\
&= - \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \frac{(\mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- J_k(n, t))^2}{p_n(t) B_k(n)} - \\
&\quad - \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \mathbb{E}_{k-1}^+ \mathbb{E}_k^- J_k(n, t) \frac{A_k(n) + D_k^- B_k(n)}{B_k(n)} =
\end{aligned}$$

Moltiplicando per  $\frac{-D_k^+ \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+}{-D_k^+ \mathbb{E}_{k-1}^- \mathbb{E}_k^+} = \frac{D_k^-}{D_k^+}$

$$= \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \frac{D_k^+ J_k^2(n)}{p_n(t) D_k^- B_k(n)} - \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} D_k^+ J_k(n, t) \frac{A_k(n) + D_k^- B_k(n)}{D_k^- B_k(n)}$$

Per  $N \gg 1$  i cambiamenti di  $p_n(t)$  e  $J_k(n, t)$  per un singolo scambio di indici sono trascurabili i.e.  $D_k^+ J_k(n, t) \simeq J_k(n, t)$ , per cui

$$\dot{S}_{in} = \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \frac{J_k^2(n)}{p_n(t) D_k^- B_k(n)} - \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} J_k(n, t) \frac{A_k(n) + D_k^- B_k(n)}{D_k^- B_k(n)} \quad (\text{B.7})$$

Confrontando con (70), dove  $\dot{S}_{in} = \dot{S}_{tot} - \dot{S}_{en}$  si vede che

$$\dot{S}_{tot} = \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} \frac{J_k^2(n)}{p_n(t) D_k^- B_k(n)} \quad \dot{S}_{en} = \sum_{k=1}^m \sum_{|n|=N} J_k(n, t) \frac{A_k(n) + D_k^- B_k(n)}{D_k^- B_k(n)} \quad (\text{B.8})$$

## Appendice C

# Distribuzione stazionaria indipendente da $\lambda$

La condizione stazionaria per il flusso modulato (105) è

$$\begin{aligned} -\sum_{k=1}^m D_k^+ \hat{J}_k(n, t) &= \sum_{k=1}^m D_k^+ (\hat{A}_k(n) \hat{p}_n^s - D_k^- B_k(n) \hat{p}_n^s) = \\ &= \sum_{k=1}^m D_k^+ (A_k(n) \hat{p}_n^s - \lambda A_k^{ex}(n) \hat{p}_n^s - D_k^- B_k(n) \hat{p}_n^s) = \\ &= \sum_{k=1}^m D_k^+ (A_k(n) \hat{p}_n^s - D_k^- B_k(n) \hat{p}_n^s) - \lambda \sum_{k=1}^m D_k^+ A_k^{ex}(n) \hat{p}_n^s = 0 \end{aligned}$$

Il primo termine risulta nullo per la condizione di NESS  $\sum_k D_k^+ J_k(n) = 0$  e ponendo  $\hat{p}_n^s = p_n^s$ . Si ha quindi

$$\lambda \sum_{k=1}^m D_k^+ A_k^{ex}(n) p_n^s = 0$$

Per la definizione di  $A_k^{ex}(n)$  (101)

$$\lambda \sum_{k=1}^m D_k^+ J_k^s(n) = 0$$

# Bibliografia

- [1] De Oliveira L.R. *Master Equation: Biological Applications and Thermodynamic Description* (2014)
- [2] de Oliveira L.R., Bazzani A., Giampieri E., Castellani G. *The role of non-equilibrium fluxes in the relaxation processes of the linear chemical master equation* (2014)
- [3] Giampieri E. *Chemical Master Equation: Motivazioni, concetti e metodi di risoluzione* (2013)
- [4] Bazzani A., Castellani G.C., Giampieri E., Remondini D., Cooper L.N. *Bistability in the chemical master equation for dual phosphorylation cycles* (2012)
- [5] Mirzaev I., Gunawardena J. *Laplacian Dynamics on General Graphs* (2013)
- [6] Thomson, M., Gunawardena, J. *The rational parameterisation theorem for multisite post- translational modification systems* (2009)
- [7] Gunawardena J. *A Linear Framework for Time-Scale Separation in Nonlinear Biochemical Systems* (2012)
- [8] Thomson, M., Gunawardena, J. *Unlimited multistability in multisite phosphorylation systems* (2009)
- [9] Van Kampen N.G. *Stochastic processes in physics and chemistry* (2003)
- [10] Zia R.K.P., Schmittmann B. *Probability currents as principal characteristics in the statistical mechanics of non-equilibrium steady states* (2007)
- [11] Seifert U. *Stochastic thermodynamics, fluctuation theorems, and molecular machines* (2012)
- [12] Ge H., Qian H. *Physical origins of entropy production, free energy dissipation, and their mathematical representations* (2010)
- [13] Qian H. *Phosphorylation Energy Hypothesis: Open Chemical Systems and Their Biological Functions* (2007)